The University of Tehran Press

Iranian Journal of Plant Protection Science

Online ISNN: 2008-4781

Homepage: http://ijpps.ut.ac.ir/

Mortality effect of *Ferula persica*, *Ferula assafoetida*, and *Otostegia persica* essential oils against the two-spotted spider mite as a single and mixed application

Javad Molavi[1], Faezeh Bagheri[2]✉, Mohammad Ali Akrami[3], Fatemeh Raouf Fard[4]

1. Graduated with a master's degree in entomology, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran. E-mail: javad.molavi@gmail.com
2. Corresponding Author, Department of Plant Protection, College of Agriculture, shiraz University, Fars, Iran. E-mail: f.bagheri@shirazu.ac.ir
3. Department of Plant Protection, College of Agriculture, shiraz University, Fars, Iran. E-mail: akrami@shirazu.ac.ir
4. Department of Horticultural Science, College of Agriculture, shiraz University, Fars, Iran. E-mail: fraouffard@yahoo.com

Article Info

Article type:

Research Article

Article history:

Received: 17 September 2024

Revised: 9 October 2024

Accepted: 18 October 2024

Published online: Atumn and Winter 2024

Keywords:

Bioassay,

Inhalation toxicity,

mixture application,

essential oil,

antagonistic effect.

ABSTRACT

Tetranychus urticae Koch is one of the most damaging agricultural pests. The present study investigated the inhalation toxicity of essential oils from two species of Angouze (*Ferula assafoetida* and *F. persica*) and one species of Gerbera (*Otostegia persica*) against this mite as a single application, an equal proportion of a mixture of two types of Angouze, and an equal ratio of two kinds of Angouze and one type of Golder. Several adult mites were placed on the leaf discs of the pinto bean. Each experiment was performed at six concentrations, with three repetitions for each concentration. Twenty adult ticks of the same age (24 hours) were used in this study. The experiment was conducted using a completely randomized design. The number of casualties was counted after 24 hours. The results of this study showed that the LC_{50} values for the essential oils of *F. persica*, *F. assafoetida*, and *O. persica*, a binary mixture of two species of Angouze, and a ternary mixture of essential oils of two species of Angouze and Golder were 0.054, 0.2, 0.407, 0.17, and 0.93 µl/L respectively. The comparison of 50% lethal concentrations of essential oils and their mixtures showed that *F. persica* essential oil has significantly higher inhalation properties than other essential oils and their mixtures, and toxicity The mixtures were considerably less than the toxicity of each essential oil alone. Based on these comparisons, we determined that there was an antagonistic relationship between them.

Cite this article: Molavi, J., Bagheri, F., Akrami, M. A. & Raouf Fard, F. (2024). Mortality effect of *Ferula persica*, *Ferula assafoetida*, and *Otostegia persica* essential oils against the two-spotted spider mite as a single and mixed application. *Iranian Journal of Plant Protection Science*, 55 (2), 247-261. DOI: https://doi.org/10.22059/ijpps.2024.382490.1007067

© The Author(s).

Publisher: The University of Tehran Press.

DOI: https://doi.org/10.22059/ijpps.2024.382490.1007067

Extended Abstract

Introduction

The two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae), is one of the most damaging agricultural pests worldwide. In addition to feeding on plant cells and causing plant weakness, this pest also disrupts transpiration and photosynthesis by weaving webs. Considering the limited number of pesticides for pest control, the emergence of resistance to existing pesticides, and the dangers of using chemical pesticides for non-target organisms and the environment, there is a need to introduce alternatives of natural origin and low risk instead of common synthetic pesticides that leave less dangerous residues in the environment and at the same time have acceptable activity compared to chemical pesticides.

Materials and Methods

the present study investigated the inhalation toxicity of essential oils from two species of Angouze (*Ferula assafoetida* and *F. persica*) and one species of Golder (*Otostegia persica*) against two-spotted spider mites at a temperature of 30 ± 1 °C, relative humidity of 50± 5 %, photoperiod of 16 h of light and 8 h of darkness as a single application, an equal proportion of the mixture of two types of Angouze, and an equal ratio of two kinds of Angouze and one type of Golder. For the experiment, several adult mites of the same age were placed on the leaf discs of the pinto bean plant and placed on a water agar medium. The concentration series used for the bioassay with *F.assafoetida*, *F. persica*, and *O. persica* species included 0, 50, 75, 150, 250, and 300 µL per liter; 0, 17, 35, 50, 70, and 80 µL per liter; and 0, 400, 7000, 15000, 20000, and 25000 µL per liter. Each experiment was performed at six different concentrations, with three replicates for each concentration. Twenty adult mites of the same age (24 h) were used in the present study. A total of 360 one-day-old adult female mites and 1800 mites were used in all bioassays. The experiment was conducted using a completely randomized design in Petri dishes with a diameter of 6 cm using the inhalation method.

Results and Discussion

The results of this study showed that the LC_{50} values for the essential oils of *F. persica*, *F. assafoetida*, *and O. persica*, a binary mixture of two species of Angouza, and a ternary mixture of essential oils of two species of Angouze and Golder, were 0.054 and 0.2, respectively. It was 0.407, 0.17, and 0.93 microliters per liter of air. The comparison of 50% lethal concentrations of essential oils and their mixtures at the 95% probability level showed that *F. persica* essential oil has significantly higher smoking properties than other essential oils and their mixtures, and toxicity The mixtures were significantly less than the toxicity of each of the essential oils alone, and based on the comparisons, it was determined that there is an antagonistic relationship between them; Therefore, the best-recommended combination among the studied combinations is *F. persica* species. Also, this study showed that the essential oils of the two species of Angoze separately have a good acaricidal effect and work much better than the essential oil of Golder. In addition, among these two species, the *F.persica* species has a greater acaricidal effect than *F.assafoetida*, and, with its low 50% lethal concentration, it can be a suitable combination for use in the field with additional research. Although the *F.assafoetida* species can conduct applied research to control this important pest, the *F.persica* essential oil is more effective and suitable when choosing between these two essential oils. The binary and triple mixing of these essential oils not only does not increase the insecticidal power of the mixture but also causes an antagonistic effect, therefore, mixing these essential oils should be avoided.

Conclusion

In conclusion, the findings emphasize the critical role of essential oil composition in determining acaricidal efficacy. While F. persica emerges as the most effective essential oil in this study, the antagonistic interactions observed in mixtures call for careful consideration in formulation and application strategies. The results contribute valuable insights into the development of sustainable pest management solutions, reinforcing the potential of plant-derived pesticides in addressing the global challenge of pest control.

نشریه دانش گیاهپزشکی ایران، دوره ۵۵، شماره ۲

انتشارات دانشگاه تهران

شاپا الکترونیکی: ۷۸۶۸-۲۴۲۳

Homepage: http://ijpps.ut.ac.ir/

اثر کشندگی اسانس های *Ferula persica*، *Ferula assafoetida* و *Otostegia persica* و مخلوط آنها علیه کنه تارتن دولکه‌ای

جواد مولوی[۱] | فائزه باقری[۲]✉ | محمدعلی اکرمی[۳] | فاطمه رؤف‌فرد[۴]

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد حشره شناسی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران. رایانامه: javad.molavi@gmail.com

۲. نویسنده مسئول، بخش گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران. رایانامه: f.bagheri@shirazu.ac.ir

۳. بخش گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران. رایانامه: akrami@shirazu.ac.ir

۴. بخش علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران. رایانامه: fraouffard@yahoo.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۶/۲۷
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۷/۱۸
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۲۷
تاریخ انتشار: پاییز و زمستان ۱۴۰۳

کلیدواژه‌ها:
زیست‌سنجی، سمیت تدخینی، کاربرد مخلوط، اسانس، اثر آنتاگونیستی.

چکیده

کنه *Tetranychus urticae* Koch، یکی از خسارت‌بارترین آفات کشاورزی است. پژوهش حاضر به بررسی سمیت تدخینی اسانس‌های دو گونه آنغوزه (*Ferula assafoetida* و *F. persica*) و یک گونه گلدر (*Otostegia persica*) علیه این کنه هر کدام به تنهایی و نیز به نسبت‌های مساوی از مخلوط دو گونه آنغوزه و دو گونه آنغوزه و یک گونه گلدر پرداخته است. تعدادی کنه بالغ هم‌سن روی دیسک‌های برگی گیاه لوبیا چیتی، قرار داده شدند. هر کدام از آزمایش‌ها با شش غلظت و سه تکرار به ازای هر غلظت انجام شد؛ در هر تکرار نیز از ۲۰ عدد کنه بالغ هم‌سن ۲۴ ساعته استفاده شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تلفات بعد از ۲۴ ساعت شمارش شدند. نتایج این پژوهش نشان داد که مقادیر LC_{50} برای اسانس‌های *F. persica*، *F. assafoetida*، *O. persica*، مخلوط دوتایی دو گونه آنغوزه و مخلوط سه‌تایی اسانس دو گونه آنغوزه و گلدر به ترتیب ۰/۰۵۴، ۰/۲، ۰/۴۰۷، ۰/۱۷ و ۰/۹۳ میکرولیتر بر لیتر هوا بود. مقایسه غلظت‌های کشنده پنجاه درصد مربوط به اسانس‌ها و مخلوط آنها نشان داد که اسانس *F. persica* به‌طور معنی‌داری خاصیت تدخینی بالاتری نسبت به بقیه اسانس‌ها و مخلوط آن‌ها دارد و سمیت مخلوط‌ها از سمیت هر کدام از اسانس‌ها به تنهایی به شکلی معنی‌دار کمتر بود و بر اساس مقایسه‌های انجام شده مشخص شد که بین آنها رابطه آنتاگونیستی وجود دارد.

استناد: مولوی، جواد؛ باقری، فائزه؛ اکرمی، محمدعلی و رؤف‌فرد، فاطمه (۱۴۰۳). اثر کشندگی اسانس های *Ferula persica*، *Ferula assafoetida* و *Otostegia persica* و مخلوط آنها علیه کنه تارتن دولکه‌ای. *نشریه دانش گیاهپزشکی ایران*، ۵۵ (۲)، ۲۶۱-۲۴۷.
DOI: https://doi.org/10.22059/ijpps.2024.382490.1007067

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.
DOI: https://doi.org/10.22059/ijpps.2024.382490.1007067

مقدمه

کنه تارتن دولکه‌ای، *Tetranychus urticae*، از خانواده Tetranychidae یکی از خسارت‌بارترین آفت‌های کشاورزی در سراسر جهان می‌باشد. این آفت علاوه بر این که با تغذیه از محتویات سلول‌های گیاهی باعث ایجاد ضعف در گیاه می‌شود (Ferrero *et al.*, 2011)، با تنیدن تار باعث اختلال در تعرق و فتوسنتز نیز می‌شود (Janssen *et al.*, 1997). کنه تارتن دولکه‌ای به شدت چندین‌خوار است و می‌تواند از حدود ۹۰۰ گونه گیاهی مختلف تغذیه کند (Le Dang *et al.*, 2010). این آفت به علت کوتاه بودن دوره زندگی و تولید مثل بسیار سریع، به سرعت به آفت‌کش‌های شیمیایی مقاوم شده و عملاً استفاده مکرر از کنه‌کش‌ها فقط باعث آلودگی محصولات و افزایش اثرات جانبی زیان‌بار آن‌ها بر موجودات غیر هدف و محیط زیست شده است (Isman, 1999). تاکنون مقاومت کنه تارتن دولکه‌ای به ۹۳ کنه‌کش از ۱۰۵ کشور جهان گزارش شده است (Whalon *et al.*, 2012). با توجه به محدودیت تعداد آفت‌کش‌های موجود برای کنترل آفت‌ها از جمله کنه‌ها، نیاز به معرفی جایگزین‌های اقتصادی برای آفت‌کش‌های مصنوعی است که بقایای کم‌خطرتری در محیط برجا بگذارند و در عین حال دارای فعالیت کنه‌کشی قابل قبولی در مقایسه با آفت‌کش‌های شیمیایی باشند (حریری‌مقدم و خشاوه، ۱۳۸۸). آفت‌کش‌هایی که به عنوان کنه‌کش مصرف می‌شوند شامل گروه‌های مختلفی از مواد شمیایی هستند. علاوه بر کنه‌کش‌های اختصاصی، برخی از آفت-کش‌های فسفره، کاربامات‌ها و قارچ‌کش‌ها نیز به عنوان کنه‌کش استفاده می‌شوند و روز به روز بر اهمیت استفاده از آنها افزوده می‌شود. علت عمده آن هم استفاده بی‌رویه از ترکیبات حشره‌کش در باغ‌ها و مزارع است که باعث از بین رفتن دشمنان طبیعی کنه‌ها شده و به علاوه به برخی از آنها مقاومت نشان داده‌اند. پلی‌سولفورها و ترکیبات گوگردی معدنی عمدتاً بر کنه‌های نباتی موثرند؛ اما تأثیر آنها در برخی موارد در برابر حمله و طغیان کنه‌ها ناچیز است. (رخشانی، ۱۳۸۴).

از جمله راهکارهای قابل استفاده برای غلبه بر مشکلات آفت‌کش‌های شیمیایی رایج، استفاده از ترکیبات گیاهی از جمله اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی با خواص حشره‌کشی است. اهمیت آفت‌کش‌های گیاهی به دلایل مختلفی از جمله کم خطر بودن نسبی بیشتر آن‌ها برای انسان است. مقایسه رابطه سرطان‌زایی ترکیبات گیاهی با مواد شیمیایی مصنوعی نشان داده که این ترکیبات در مقایسه با ترکیبات شیمیایی مصنوعی به دلیل کمتر بودن حالت تجمعی و ساده‌تر بودن مولکول‌ها، خاصیت سرطان‌زایی و موتاژنی کم‌تری دارند (Schmutterer, 1990). همچنین بسیاری از این ترکیبات روی آفات، انتخابی عمل می‌کنند و روی حشرات غیر هدف، بی‌تأثیر بوده یا اثر کمی دارند (Isman, 2000) . از طرف دیگر برخلاف بروز مقاومت سریع بندپایان در برابر بیشتر آفت‌کش‌های شیمیایی مصنوعی، مقاومت به این ترکیبات به دلیل سازگاری محیطی و ایجاد تغییر در سیستم زنده گیاهی، به ندرت دیده می‌شود (نوری قنبلانی، ۱۳۸۰)، ضمن این که بسیاری از این ترکیبات گیاهی می‌توانند تأثیر زیادی علیه آفات مقاوم شده به آفت‌کش‌های مصنوعی داشته باشند (Thomas & Callaghan, 1999). اکثر ترکیبات سمی گیاهان که تاکنون استخراج شده و علیه آفات استفاده شده‌اند، نسبت به ترکیبات مصنوعی دارای دوام بسیار کمی بوده و به سرعت در برابر نور، دما و اکسیژن تجزیه می‌شوند (نوری قنبلانی، ۱۳۸۰) و در نهایت این که دسترسی به محصولات گیاهی آسان بوده و برای تولید نیاز به امکانات پیشرفته در مقایسه با آفت‌کش‌های سنتزی ندارند (Thomas & Callaghan, 1999).

اسانس‌ها مایعاتی فرار، روشن و به ندرت رنگی هستند که در چربی و حلال‌های آلی با چگالی کمتر از یک حل می‌شوند (Bakkali et al., 2008). نقطه جوش پایین آن‌ها باعث می‌شود که بتوان آن‌ها را به راحتی به وسیله تقطیر ساده جدا نمود (برخوردار، ۱۳۸۵).

خانواده Lamiaceae یکی از بزرگترین و متمایزترین خانواده‌های گیاهان گلدار با حدود ۲۲۰ جنس و حدود ۴۰۰۰ گونه در سراسر جهان است (Benavides et al., 2010; Naghibi et al., 2010). جنس *Otostegia* sp. شامل حدود ۳۳ گونه است که عمدتاً در منطقه مدیترانه و مجاور آسیای صغیر رشد می‌کند (Khan et al., 2009). گونه *Otostegia persica* با نام محلی گلدر (Yassa et al., 2005)در زیستگاه‌های خشک گرمسیری و نیمه گرمسیری ایران واقع شده است. گلدر درختچه‌ای به ارتفاع

۱/۵ متر، با شاخه‌های طویل و بندهای کوتاه و برگ‌های انبوه و گلدار می‌باشد. بخش‌های گلدار، کرکدار بوده و دمبرگ برگ‌ها کوتاه هستند (مظفریان، ۱۳۹۱).

جنس .*Ferula* spp از خانواده Apiaceae نیز شامل حدود ۱۳۰ گونه در سراسر جهان با ۳۰ گونه موجود در ایران است که پانزده گونه آن بومی است (Mozaffarian, 1996). تجزیه و تحلیل بیوشیمیایی از *Ferula* spp. وجود کومارین‌ها[1] (Appendino et al., 1993; Ghannadi et al., 2014)، Sesquiterpenes Al-Hazimi, 1986; Tamemoto et al., 2002 و نیز سولفیدها و روغن‌های فرار (Kajimoto et al., 1989; Kanani et al., 2011) را تأیید کرده است. ماده خارج شده از این گیاه در محل به عنوان آنغوزه، هنگ و بوگانه شناخته شده است. آنغوزه به نام آنغوزه اشک معروف است و از ریشه گیاه دارویی بومی *Ferula assafoetida* خارج می‌شود. این گونه اغلب به عنوان منبع اصلی آنغوزه شناخته می‌شود (Evans & Trease, 2002; Rajanikanth *et al*., 1984; Takeoka *et al*., 2001). اسانس *Ferula persica* از خانواده Apiaceae توسط کروماتوگرافی گازی و کروماتوگرافی گازی– طیف‌سنج جرمی مورد بررسی قرار گرفته است و مشخص شده است که ۶۱ جزء آن ، ۹۳/۷ ٪ از کل اسانس را تشکیل می‌دهد (Javidnia et al., 2005).

با توجه به لزوم یافتن ترکیباتی ایمن به جای ترکیبات شیمیایی رایج در کنترل آفت مهم کنه تارعنکبوتی، در این پژوهش اثر تدخینی اسانس دو گونه آنغوزه و نیز یک گونه گلدر مورد بررسی قرار گرفت. همچنین برای یافتن اثر تشدیدکنندگی احتمالی حاصل از اختلاط اسانس‌ها، مخلوط‌های اسانس‌ها، زیست‌سنجی شده و به بررسی اثر احتمالی تشدیدکنندگی آنها پرداخته شد.

پیشینهٔ پژوهش

خاصیت حشره‌کشی و کنه‌کشی عصاره و اسانس آنغوزه و گلدر تاکنون روی آفات چندی بررسی شده است و نتایج حاصل بیانگر بروز اثرات کشندگی و کارایی‌های مختلف این گیاهان روی آفات مختلف می‌باشد. یوسف‌زاده و همکاران ن در سال ۱۳۹۷ خاصیت کنه‌کشی عصاره صمغ آنغوره را روی کنه زعفران *Rhizoglyphus robini* در شرایط آزمایشگاهی بررسی کرده و بیشترین اثر آن را علیه تخم این آفت گزارش کردند (یوسف‌زاده و همکاران، ۱۳۹۷). همچنین اثر دورکنندگی اسانس، عصاره و پودر بذر گیاه آنغوزه روی لارو سن چهار و حشره کامل شب‌پره هندی توسط مزدایی و همکاران در سال ۱۳۹۸ مورد بررسی قرار گرفت (مزدایی و همکاران، ۱۳۹۸). گلدانساز و همکاران نیز در سال ۲۰۱۲ با بررسی اثر اسانس آنغوزه در مهار خسارت کرم گلوگاه انار پی به اثر قابل توجه آن بردند (Goldansaz *et al*., 2012). این نتیجه با پژوهش کاویانپور و همکاران در سال ۲۰۱۴ منطقه شهرضا نیز تأیید شد (Kavianpour *et al*., 2014). بهرامی و همکاران در سال ۲۰۱۶ اثر اسانس آنغوزه را روی سوسک کشیش بررسی کردند و آن را کاراتر و ماندگارتر از اسانس شمعدانی و برگ گردو گزارش کردند (Bahrami *et al*., 2016). در پژوهشی دیگر روستا و همکاران در سال ۱۳۹۵ اثر عصاره گلدر را در کنترل سفیدبالک گلخانه بررسی کردند. نتایج نشان داد که بیشترین درصد تلفات در غلظت ۵ گرم در لیتر از گیاه گلدر به دست آمد (روستا و همکاران، ۱۳۹۵). بررسی رئیسی نژاد و همکاران در سال ۱۳۹۶ نیز روی اثر کشندگی و دورکنندگی عصاره متانولی گلدر و مورد علیه لمبه گندم نشان داد که عصاره مورد اثر کشندگی و دورکنندگی بیشتری نسبت به عصاره گلدر دارد (رییسی‌نژاد و همکاران، ۱۳۹۶). سالاری و همکاران در سال ۲۰۱۰ نیز اثر عصاره استونی گلدر را بر سه گونه شته و یک گونه آفت انباری بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که درصد مرگ و میر در *Aphis fabae* و *Myzus persicae* بیشتر از *Tribolium castaneum* است (Salari *et al*., 2010) .در سال ۲۰۱۸ شفیعی و همکاران اثر سیستمیک عصاره‌های اتانولی، متانولی و آبی گیاه .*Otostegia persica* Boissier را علیه شته *Brevicoryne brassicae* بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که عصاره اتانولی *O.persica* منجر به کاهش جمعیت *B.brassicae* می‌شود (Shafiei *et al*., 2018).

1. coumarins

در پژوهش حاضر به منظور بررسی اثر کنه‌کشی اسانس دو گونه گیاه آنغوزه *Ferula assafoetida* و *Ferula persica* و گیاه گلدر، *Otostegia persica*، علیه افراد بالغ کنه تارتن دولکه‌ای و نیز بررسی برهم‌کنش‌های احتمالی این اسانس‌ها در صورت مخلوط شدن دوتایی و سه‌تایی آنها با هم، زیست‌سنجی‌های متعددی انجام و نتایج جالب توجهی به دست آمد که در ادامه به آنها پرداخته خواهد شد.

روش‌شناسی پژوهش

پرورش گیاه

برای پرورش کنه تارتن دولکه‌ای، ابتدا پنج بذر لوبیا چیتی رقم تلاش در گلدان‌هایی به قطر دهانه ۲۰ سانتی‌متر و حجم دو لیتر، کاشته شده و یک روز در میان آبیاری شدند. گلدان‌ها در شرایط گلخانه نگهداری شده و برای پرورش و هم‌سن‌سازی کنه‌ها به ترتیب از گیاهان کامل و نیز برگ‌های آنها استفاده شد.

پرورش کنه تارتن دولکه‌ای

برای پرورش کنه تارتن، ابتدا تعدادی کنه نر و ماده از برگ‌های آلوده لوبیا در شرایط مزرعه‌ای جدا شده و روی برگ‌های سالم رها شدند تا جفت‌گیری کرده و جمعیتشان افزایش یابد. پرورش کنه‌ها در شرایط گلخانه‌ای انجام شد.

هم‌سن سازی کنه‌ها

برای هم‌سن کردن کنه‌ها ابتدا محیط کشت واتر‌آگار با مخلوط کردن ۴۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰ گرم آگار ساخته و به مدت ۴۰ دقیقه در اتوکلاو ضدعفونی شد. ظرف‌های پتری بعد از شسته و ضدعفونی شدن تا نیمه از واتر‌آگار پر شدند و قبل از سفت شدن محیط کشت، برگ‌های لوبیایی که عاری از تخم و کنه بالغ بودند روی آن‌ها قرار داده شدند. با این کار رطوبت برگ‌ها حفظ می‌شد. پس از گذاشتن برگ روی آگار، به اندازه نیم سانتی‌متر از دور تا دور برگ باقی مانده و بقیه آگار برداشته و به جای آن آب مقطر ریخته شد. روی برگ‌های لوبیای موجود در پتری‌ها تعدادی کنه نر و ماده گذاشته و پتری‌ها در اتاقک رشد با دمای ۱±۳۰ درجه سلسیوس، رطوبت ۵±۵۰٪ و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند تا ماده‌ها تخم‌گذاری کنند. پس از ۲۴ ساعت کنه‌های بالغ از درون پتری‌ها خارج شده و اجازه داده شد تا تخم‌ها تفریخ و بعد از طی مراحل نمو، بالغ شوند. تخم‌ها پس از هفت روز بالغ شدند.

جمع‌آوری گیاهان دارویی مورد بررسی و تهیه اسانس از آنها

صمغ‌های به دست آمده از *Ferula assafoetida* از منطقه هورنود واقع در شهرستان لار استان فارس به مختصات جغرافیایی N 4.98" 28' 27°E-30.66" 18' 54° و ارتفاع از سطح دریای ۱۶۹۴ متر جمع آوری شدند. و برای اسانس‌گیری میزان ۲۰ گرم از صمغ به همراه یک لیتر آب مخلوط شده و با دستگاه کلونجر اسانس‌گیری از آن انجام شد. همچنین برای اسانس‌گیری از *Ferula persica* صمغ‌های این گیاه، از شهرستان سپیدان با مختصات جغرافیایی 30° E- 26.90" 0' 52° N 13.10" 16' و ارتفاع از سطح دریای ۲۵۸۶ مترتهیه شد. صمغ گیاه به میزان ۵۰ گرم در یک لیتر آب مقطر در دستگاه کلونجر شیشه‌ای اسانس‌گیری شد. اسانس‌های به دست آمده پس از ۴ ساعت با استفاده از سولفات سدیم آب‌گیری و تا زمان استفاده در ظروف شیشه‌ای تیره با درپوش آلومینیومی در دمای ۴ درجه سلسیوس در یخچال نگه‌داری شدند.

گل‌های گلدر نیز از منطقه سروستان استان فارس با مختصات جغرافیایی N 22" 13' 29° E- 57" 57' 52° و ۱۵۱۵ متر ارتفاع از سطح دریا جمع آوری و پس از خشک شدن در سایه به وسیله آسیاب برقی پودر شدند. سپس برای اسانس‌گیری، ۱۰۰ گرم از پودر گل‌های خشک‌شده با یک لیتر آب مقطر مخلوط شده و با استفاده از دستگاه کلونجر شیشه‌ای اسانس‌گیری به

مدت سه ساعت انجام شد. اسانس به دست آمده با استفاده از سولفات سدیم آب‌گیری شده و تا زمان استفاده در ظرف شیشه‌ای تیره با درپوش آلومینیومی در دمای ۴ درجه سلسیوس در یخچال قرار داده شد.

شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس‌ها

آنالیز ترکیبات شیمیایی اسانس‌ها توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی (Beifen, 3420A, China) مجهز به ستون HP-5MS (به طول ۳۰ متر، قطر ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر)، متصل به طیف‌سنج جرمی (Agilent model 5975-C) انجام شد. نوع ستون استفاده شده در این سنجش HP-5MS بود. طول این ستون ۳۰ متر، قطر داخلی آن ۰/۳۲ میلی‌متر و ضخامت فیلم آن ۰/۲۵ میکرومتر بود. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از ۶۰ تا ۲۱۰ درجه سلسیوس با سرعت افزایش دمای ۳ درجه سلسیوس در دقیقه انجام گرفت؛ سپس با سرعت ۲۰ درجه سلسیوس در دقیقه تا ۲۴۰ درجه سلسیوس افزایش یافت و دمای نهایی به مدت ۸/۵ دقیقه نگه داشته شد. دمای انژکتور و دتکتور نیز به ترتیب ۲۵۰ و ۳۰۰ درجه سلسیوس بود و سرعت حرکت گاز حامل نیتروژن ۱ میلی‌لیتر در دقیقه تنظیم شد.

تجزیه شیمیایی اسانس با استفاده از گاز کروماتوگراف (Agilent model 7890-A) انجام شد

زیست‌سنجی تنفسی اسانس‌ها

زیست‌سنجی اسانس‌ها به شیوه تدخینی و در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش غلظت و هر غلظت با سه تکرار در دمای ۲±۳۰ درجه سلسیوس، رطوبت ۵±۵۰ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انجام شد. به ازای هر تکرار غلظت سازی جداگانه انجام گرفت. اسانس‌ها در حلال متانول حل شده و برای غلظت‌سازی استفاده شدند. با سمپلر ۵۰ میکرولیتر از غلظت‌های ساخته شده روی کاغذ صافی چسبیده شده به درب پتری به ابعاد دو سانتی‌متر در دو سانتی‌متر ریخته شد. پس از تبخیر متانول، درب پتری‌ها بسته شده و برای جلوگیری از فرار مولکول‌های اسانس، درب ظرف‌ها با پارافیلم بسته شدند. در تیمار شاهد از متانول استفاده شد. برای به دست آوردن غلظت‌های مورد آزمایش در زیست‌سنجی اصلی، از آزمون‌های مقدماتی استفاده شد تا غلظت‌هایی که در محدوده ۲۵ تا ۷۵ درصد تلفات ایجاد می‌کردند، تعیین شوند. آزمون‌های مقدماتی با یک تکرار و شش غلظت در شرایط تعریف شده برای زیست‌سنجی‌های اصلی انجام شدند. تمام زیست‌سنجی‌ها در پتری‌هایی با شرایط مشابه پتری‌های مورد استفاده در پرورش انجام شدند. سری غلظت‌هایی که برای زیست‌سنجی با گونه‌های *F.assafoetida*، *F.persica* و *O.persica* استفاده شدند به ترتیب شامل ۰، ۵۰، ۷۵، ۱۵۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میکرولیتر بر لیتر، ۰، ۱۷، ۳۵، ۵۰، ۷۰ و ۸۰ میکرولیتر بر لیتر و ۰، ۴۰۰، ۷۰۰۰، ۱۵۰۰۰، ۲۰۰۰۰ و ۲۵۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر بودند. روی هر دیسک برگی لوبیاهای موجود در پتری، تعداد ۲۰ عدد کنه ماده بالغ هم‌سن یک روزه قرار داده شد. در هر زیست‌سنجی از ۳۶۰ کنه ماده بالغ همسن یک روزه و در کل زیست‌سنجی‌های انجام شده ۱۸۰۰ عدد کنه مزبور به کار برده شد. پس از ۲۴ ساعت تعداد تلفات، شمارش و کنه‌هایی که با تحریک قلم‌مو قادر به حرکت نبودند مرده در نظر گرفته شدند.

زیست سنجی اسانس‌ها علیه کنه تارتن دو لکه‌ای، چه در کاربرد تکی هر یک از آنها و چه در اختلاط آنها با یکدیگر، در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش غلظت و هر غلظت با سه تکرار در دمای ۲±۳۰ سلسیوس، رطوبت ۵±۵۰٪ و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انجام شد. حلال مورد استفاده در غظت‌سازی‌ها و نیز تیمار کنه‌ها در شاهد، متانول بود. آماده سازی پتری‌ها برای انجام زیست‌سنجی‌ها مانند آنچه برای هم‌سن‌سازی گفته شد بود. در هر پتری ۲۰ کنه ماده بالغ هم‌سن یک‌روزه قرار داده شد. برای تیمار تدخینی از کاغذهای صافی در ابعاد دو در دو سانتی‌متر استفاده شده و حجم ۵۰ میکرولیتر از غلظت مورد نظر روی آن ریخته شد که پس از تبخیر حلال آن، درب ظرف بسته شده و دور درب برای جلوگیری از فرار ملکول‌های اسانس با پارافیلم پوشانده شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت تعداد تلفات زیر بینی‌کولار شمارش و کنه‌هایی که با تحریک قلم‌مو قادر به حرکت نبودند مرده در نظر گرفته شدند.

گمارش غلظت‌ها با آزمون‌های مقدماتی به شیوه‌ای تعیین شد که دامنه نوسان تلفات بین ۲۵ تا ۷۵ درصد باشد. غلظت‌های مورد استفاده برای اسانس‌های *F.persica*، *F.assafoetida*، گلدر، مخلوط دو گونه آنغوزه به نسبت مساوی و مخلوط سه‌تایی به نسبت مساوی به ترتیب (۰، ۱۷، ۳۵، ۵۰، ۷۰ و ۸۰)، (۰، ۵۰، ۷۵، ۱۵۰، ۲۵۰ و ۳۰۰)، (۰، ۴۰۰، ۷۰۰۰، ۱۵۰۰۰، ۲۰۰۰۰ و ۲۵۰۰۰)، (۰، ۴۰، ۸۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰) و (۰، ۸۰، ۳۰۰، ۷۰۰، ۱۲۰۰ و ۲۰۰۰) میکرولیتر بر لیتر بودند.

بررسی اثر تشدیدکنندگی

در این آزمایش از سه اسانس گیاهی آنغوزه *F. persica*(پرسیکوم)، آنغوزه *F. assafoetida* (هورنود) و گلدر *O. persica* به صورت ترکیب‌های دوتایی و سه‌تایی استفاده شد. برای محاسبه نسبت تشدیدکنندگی از روش سان و جانسون (۱۹۶۰) به شرح زیر استفاده شد (Sun & Jhonson, 1960):

ضریب سمیت مشترک مخلوط = (شاخص سمیت حقیقی مخلوط \شاخص سمیت تئوریکی مخلوط) × 100[1]

اگر ضریب سمیت مشترک مخلوط بزرگتر از ۱۰۰ بشود عملکرد تشدیدکنندگی[2] اگرکوچکتر از ۱۰۰ بشود، عملکرد آنتاگونیستی[3] و اگر برابر با ۱۰۰ بشود، عملکرد افزایشی[4] خواهد بود. برای به دست آوردن شاخص سمیت حقیقی یک مخلوط، می‌بایست ماده‌ای از مواد مورد بررسی را به عنوان استاندارد انتخاب کرد. چون در این پژوهش از اسانس‌های گیاهی خالص به نسبت مساوی مخلوط شدند ، بنابراین اسانسی می‌بایست به عنوان استاندارد انتخاب می‌شد که غلظت کشنده‌ی پنجاه درصدی کمتری نسبت به بقیه اسانس‌ها داشته باشد. لذا در این آزمایش اسانس آنغوزه *F. persica* (پرسیکوم) به دلیل داشتن کمترین میزان LC_{50} به عنوان استاندارد انتخاب شد. برای به دست آوردن شاخص سمیت حقیقی مخلوط از فرمول زیر استفاده شد.

شاخص سمیت حقیقی مخلوط = (غلظت کشنده پنجاه درصد ماده استاندارد\غلظت کشنده پنجاه درصدمخلوط) × 100[5]

همچنین برای محاسبه شاخص سمیت تئوریکی مخلوط از فرمول زیر استفاده شد:

شاخص سمیت تئوریکی مخلوط = (شاخص سمیت ماده اول × درصد ماده اول در مخلوط) + (سمیتشاخص ماده دوم × درصد ماده دوم در مخلوط) + ...[6]

تجزیه و تحلیل داده‌ها

غلظت‌های کشنده ۵۰ درصد در زیست‌سنجی‌های این پژوهش، با استفاده از نرم افزار PoloPlus برآورد شدند و سایر محاسبات آماری نیز با نرم افزار Excel 16 انجام شد. رسم گراف‌ها نیز با نرم افزار SigmaPlot 12.0 انجام شد.

یافته‌های پژوهش

1. Co-toxicity coefficient of mixture = (Actual toxicity index of a mixture / Theoretical toxicity index of a mixture) ×100
2. Synergistic
3. Antagonistic
4. Additive
5. Actual toxicity index of a mixture = (LC50 of standard compound / LC50 of mixture) ×100
6. Theoretical Toxicity index of a mixture = Toxicity index of standard compound × % of standard compound in mixture + Toxicity index of second compound × % of second compound in mixture + …

ترکیب‌های موجود در اسانس‌ها

تجزیه کروماتوگرافی گازی طیف سنج جرمی مربوط به ترکیب‌های شیمیایی موجود در اسانس‌های مورد مطالعه تعداد ۲۶ ترکیب را در گونه *F.persica*، ۳۳ ترکیب را در گونه *F. assafoetida* و ۴۸ ترکیب را در گونه *O.persica* شناسایی کرد. بیشترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گونه *F.persica* شامل α-Pinene (۲۷/۱درصد)، β-pinene (۱۰/۶ درصد)، -1-(Z) propenyl sec-butyl disulfide (۲۰/۲ درصد)، β-Dihydro agarofuran (۶/۳ درصد)، allo-Aromadendrene (۵/۱ درصد)، (E)-1-propenyl sec-butyl disulfide (۴/۷درصد) و (Z)-β-Ocimene (۴/۵ درصد) بودند که در مجموع ۷۸/۵ درصد از کل ترکیبات شناسایی شده را تشکیل دادند. بیشترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گونه *F. assafoetida* به ترتیب عبارت بودند از (E)-1-propenyl sec-butyl disulfide (۲۶/۲۴ درصد)، (Z)-1-propenyl sec-butyl disulfide (۱۲/۷۶ درصد)، -β-(E) Ocimene (۱۱/۸۷ درصد)، β-pinene (۱۱/۰۲ درصد)، α-pinene (۱۰/۵۳ درصد) که در مجموع ۷۲/۴ درصد از کل ترکیبات شناسایی شده را تشکیل دادند. در گونه *O.persica* بیشترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس شامل α-pinene (۱۰/۲)، trans-Verbenol (۶/۱۲ درصد)، 1-Octen-3-ol (۴/۷۶ درصد)، (E)-Caryophyllene (۴/۱۱ درصد)، و Linalool (۴/۰۹۵ درصد) که در مجموع ۲۹/۲۸ درصد از کل ترکیبات شناسایی شده را تشکیل دادند.

زیست‌سنجی هر یک از اسانس‌ها و مخلوط آنها

زیست‌سنجی با اسانس‌های مورد بررسی در این پژوهش نشان داد که میزان LC_{50} محاسبه شده برای سه گونه *F. persica*، *F. assafoetida* و *O. persica* به ترتیب ۴۱/۳۶۷، ۱۴۷/۸۰۷ و ۸۱۴۷/۵۴۵ میکرولیتر بر لیتر می‌باشد. همچنین میزان LC_{50} برای مخلوط سه گونه مورد مطالعه و نیز مخلوط دو گونه آنغوزه به ترتیب ۶۸۷/۹۸ و ۱۲۵/۳۱۴ میکرولیتر بر لیتر به دست آمد (جدول ۱).

جدول ۱. مقدار LC_{50} اسانس‌های *Ferrula persica*، *Ferrula assafoetida* و *Otestegia persica* و مخلوط آنها علیه ماده‌های بالغ هم‌سن *Tetranychus urticae*

اسانس	غلظت کشنده ۵۰ درصد (میکرولیتر بر لیتر)	دامنه اطمینان حد بالا- حد پایین (سطح احتمال ۹۵٪)	شیب ± خطای استاندارد	کای‌اسکور	ناهمگونی
F. persica	۴۱/۳۶۷	۳۲/۲۱۸ – ۵۰/۴۲۱	۱/۷۸۴±۰/۳۱۸	۳/۵۱	۰/۲۷
F. assafoetida	۱۴۷/۸۰۷	۱۱۱/۲۰۳ – ۲۰۳/۳۲	۱/۲۲۵±۰/۲۵۲	۴/۵۵	۰/۳۵
O. persica	۸۱۴۷/۵۴۵	۴۲۰۲/۲۳۷ –۱۵۹۷۲/۵۸۱	۰/۵۵۱±۰/۱۸۸	۸/۱	۰/۶۲
Mixture of three species	۶۸۷/۹۸	۴۴۹/۰۷۱ –۱۱۳۵/۷۴۸	۰/۸۰۲ ± ۰/۱۵۷	۵/۵	۰/۴۲
Mixture of F. persica and F. assafoetida	۱۲۵/۳۱۴	۹۷/۳۵۷ – ۱۶۲/۸۷۳	۱/۴۰۸ ± ۰/۲۶۴	۶/۴۷	۰/۵۰

مقایسه قدرت کشندگی اسانس‌ها و مخلوط آنها

مقایسه قدرت کشندگی اسانس‌های مختلف با یکدیگر و نیز با مخلوط دوتایی و سه تایی آنها نشان داد که موثرترین اسانس، اسانس حاصل از *F. persica* می‌باشد که به شکلی معنی‌دار و به میزان ۳/۵۷ و ۱۹۶/۹۶ برابر سمی‌تر از اسانس‌های دو گونه *F. assafoetida* و *O. persica* و نیز به شکلی معنی‌دار، ۳/۰۳ و ۱۶/۶۳ برابر سمی‌تر از مخلوط دو گونه (دو گونه آنغوزه) و نیز مخلوط سه گونه (دو گونه آنغوزه و گونه گلدر) برای کنه‌های مورد بررسی می‌باشد (جدول ۲). کمترین میزان

LC_{50} مشاهده شده نیز مربوط به همین اسانس می‌باشد (جدول ۱) که تفاوت معنی‌دار با سایر اسانس‌ها و مخلوط آنها دارد (جدول ۲).

همچنین گونه F. assafoetida از O. persica و نیز مخلوط سه گونه به شکلی معنی‌دار سمی‌تر بوده و میزان LC_{50} آن از O. persica و مخلوط سه گونه کمتر می‌باشد (جدول ۲ و ۱). اسانس گونه F. assafoetida اثربخشی بیشتری به ترتیب به میزان ۵۵/۱۲ و ۴/۶۶ برابر نسبت به آنها دارد و این کمتر بودن معنی‌دار است (جدول ۲)؛ ولی اختلاف میان F. assafoetida و مخلوط دو گونه آنغوزه علی‌رغم کمتر بودن میزان LC_{50} آن نسبت به مخلوط دوگونه (جدول ۱)، معنی‌دار نیست (جدول ۲).

همچنین مخلوط دو گونه آنغوزه و نیز مخلوط سه گونه سمیت معنی‌دار بیشتری نسبت به *O. persica* داشته و این بیشتر بودن به ترتیب ۶۵/۰۲ و ۱۱/۸۴ برابر می‌باشد (جدول ۲). این نتیجه از بیشتر بودن LC_{50} گلدر نسبت به دو مخلوط فوق حکایت دارد (جدول ۱). مخلوط دو گونه آنغوزه نیز نسبت به مخلوط سه گونه سمیت معنی‌دار بیشتری داشته و ۵/۴۹۰ برابر سمی‌تر است (جدول ۲). در جدول یک نیز مشخص است که غلظت کشنده ۵۰٪ مخلوط دوگونه کمتر از مخلوط سه گونه بوده (جدول ۱) و این کمتر بودن معنی‌دار است (جدول ۲). همچنین در مقایسه خطوط غلظت – پاسخ حاصل از اسانس‌ها مشخص می‌شود که هیچ کدام از دو خط مورد مقایسه، به جز در مقایسه *F. assafoetida* و مخلوط دو گونه آنغوزه، نه با هم موازی و نه یکی هستند و بنابراین احتمال می‌رود که شیوه اثر این سه ترکیب با هم و با مخلوط آنها متفاوت باشد (جدول ۲).

جدول ۲. وجود تفاوت در قدرت کشندگی اسانس‌ها علیه ماده‌های بالغ هم‌سن *Tetranychus urticae*

مقایسه اسانس‌ها	نسبت غلظت کشنده ۵۰ درصد حد بالا- حد پایین (سطح احتمال ۹۵٪)	معنی‌داری	فرض موازی بودن خطوط غلظت - پاسخ	فرض یکی بودن خطوط غلظت - پاسخ
F.persica با *F. assafoetida*	۳/۵۷۳ (۲/۵۳۲ -۵/۰۴۲)	+	رد شده	رد شده
F.persica با *O. persica*	۱۹۶/۹۵۶ (۱۰۲/۸۳۵ -۳۷۷/۲۲۲)	+	رد شده	رد شده
F.assafoetida با *O. persica*	۵۵/۱۲۳ (۲۷/۹۳۶ -۱۰۸/۷۶۹)	+	رد شده	رد شده
F.persica با مخلوط *F.persica* و *F.assafoetida*	۳/۰۲۹ (۲/۲۱۱ -۴/۱۵۰)	+	رد شده	رد شده
F. persica با مخلوط سه اسانس	۱۶/۶۳۱ (۱۰/۳۰۰ -۲۶/۸۵۳)	+	رد شده	رد شده
F.assafoetida با مخلوط *F .persica* و *F. assafoetida*	۱/۱۷۹ (۰/۸۱۳ -۱/۷۱۲)	–	پذیرفته شده	پذیرفته شده
F.assafoetida با مخلوط سه اسانس	۴/۶۵۵ (۲/۷۷۰ -۷/۸۲۰)	+	رد شده	رد شده
مخلوط *F. persica* و *F.assafoetida* با *O. persica*	۶۵/۰۱۷ (۳۳/۴۳۲ -۱۲۶/۴۴۴)	+	رد شده	رد شده
مخلوط سه اسانس با *O. persica*	۱۱/۸۴۳ (۵/۵۵۵ -۲۵/۲۴۵)	+	رد شده	رد شده
مخلوط *F. persica* و *F. assafoetida* با مخلوط سه اسانس	۵/۴۹۰ (۳/۳۳۱ -۹/۰۴۹)	+	رد شده	رد شده

اثر سینرژیستی اسانس‌ها

با توجه به محاسبات انجام شده توسط فرمول سان و جانسون (۱۹۶۰) شاخص سمیت حقیقی مخلوط دو اسانس F.persica و F.assafoetida برابر با ۳۳ به دست آمد. همچنین شاخص سمیت تئوری مخلوط این دو اسانس ۱۸۹۹/۵ به دست آمد. لذا ضریب سمیت مشترک بین دو اسانس آنغوزه ۱۷/۳۷ به دست آمد. از آنجا که عدد به دست آمده از ۱۰۰ کوچکتر است، رابطه بین این دو اسانس، سینرژیستی نبوده و آنتا گونیستی است.

بررسی اثر سینرژیستی مخلوط سه گونه مورد بررسی، با توجه به محاسبات انجام شده توسط فرمول سان و جانسون (۱۹۶۰)، نشان داد که شاخص سمیت حقیقی مخلوط برابر با ۶/۰۱ است. همچنین شاخص سمیت تئوری مخلوط ۴۲۷۸/۶۱۷ به دست آمد. لذا ضریب سمیت مشترک بین دو اسانس آنغوزه و گلدر ۰/۱۴ به دست آمد.از آنجا که عدد به دست آمده از ۱۰۰ کوچک‌تر است، لذا رابطه بین این سه اسانس نیز، آنتاگونیستی است.

بحث

با توجه به اینکه ترکیب عمده در اسانس F. persica آلفا و بتا پینن می‌باشد (۳۷/۷ درصد) و از طرفی این دو جزء به میزان بیشتری در این اسانس نسبت به اسانس F. assafoetida (۲۱/۵۵ درصد) وجود دارد، لذا به نظر می‌رسد یکی از دلایل بیشتر بودن سمیت این اسانس نسبت به گونه F. assafoetida همین موضوع باشد؛ زیرا ترکیبات آلفا و بتاپینن خاصیت حشره‌کشی و کنه‌کشی مناسبی دارند. از سوی دیگر آلفا پینن خاصیت کشندگی بیشتری نسبت به ترکیبات گوگردی دارد (Ebadollahi et al., 2017) و این موضوع خود دلیل دیگری بر کشنده‌تر بودن اسانس F. persica نسبت به F. assafoetida می‌باشد؛ یعنی علی‌رغم بیشتر بودن درصد گوگرد در F. assafoerida نسبت به F. persica، به نظر می‌رسد ترکیبات پیننی به دلیل داشتن خاصیت کشندگی بیشتر و غالبیت در گونه F.persica بیشترین اثر کشندگی را به این اسانس می‌بخشند. به عبارت دیگر نسبت ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس‌ها در بروز شدت سمیت آنها اثر دارد.

میزان ترکیبات آلفا پینن در O. persica تنها ۱۰/۲ درصد بوده و فاقد بتاپینن می‌باشد. از طرفی ترکیبات گوگردی که از جمله عوامل اثرگذار در بروز خاصیت حشره‌کشی و کنه‌کشی هستند در O. persica وجود ندارد در حالی‌که ترکیبات گوگردی از جمله ترکیبات با درصد بالا در دو گونه آنغوزه می‌باشند. لذا می‌توان دلیل کمتر بودن کشندگی O.persica نسبت به دو گونه آنغوزه را که تفاوتی معنی‌دار دارد، به همین عوامل نسبت داد. بیشتر بودن معنی‌دار خاصیت کشندگی F. persica و F. assafoetida نسبت به مخلوط سه‌گونه را می‌توان به کم شدن نقش دو گونه آنغوزه به دلیل کاهش درصد میزان آنها در مخلوط و نیز ضعیف‌تر بودن خاصیت کشندگی گلدر که در این مخلوط به نسبت مساوی با بقیه وجود دارد، نسبت داد؛ همچنین خاصیت آنتاگونیستی که حاصل اختلاط عصاره‌هاست و در این پژوهش به اثبات رسید نیز از دلایل اصلی ضعیف شدن خاصیت کشندگی مخلوط نسبت به هر یک از اسانس‌های مزبور می‌باشد. اما در نبودن اختلاف معنی‌دار بین F. assafoetida با مخلوط دو گونه آنغوزه، دلیل را می‌توان به کاهش نقش F. persica در مخلوط نسبت داد. از طرفی چون دیگر اسانس موجود در مخلوط، همان اسانس F. assafoetida می‌باشد، لذا می‌تواند دلیلی برای از بین رفتن تفاوت معنی‌دار، علی‌رغم کمتر بودن ظاهری غلظت کشنده ۵۰ درصد آن نسبت به مخلوط دو گونه باشد.

نکته قابل توجهی که وجود دارد این است که هر جا اسانس *O.persica* در مقایسه‌ها حضور دارد، بروز اثر سمیت کاهش می‌یابد. به عبارتی نه‌تنها سمیت گلدر از دو اسانس دیگر به شکلی معنی‌دار کمتر است، بلکه در مقایسه با مخلوط آنها و نیز مخلوط این دو با خود گلدر نیز کمتر است. به عبارت دیگر احتمالاً ترکیبات موجود در اسانس گلدر کاهنده خاصیت کشندگی اسانس‌های آنغوزه می‌باشد؛ زیرا مخلوط دو گونه نسبت به کاربرد تکی *O.persica* سمیتی ۶۵ برابری دارد ولی در مقایسه با مخلوط سه گونه که *O.persica* در کنار اسانس دو گونه آنغوزه قرار دارد، سمیت ۱۲۵/۳۱ برابری پیدا کرده است. همین موضوع خود بار دیگر بر وجود اثر آنتاگونیستی ترکیبات گلدر در کنار ترکیبات دو گونه صحه می‌گذارد. علی‌رغم اینکه در اسانس گلدر

نیز آلفا- پینن ترکیب عمده موجود می‌باشد؛ ولی ظاهراً نبود بتا- پینن و نیز وجود ترکیبات دیگر در اسانس این گیاه باعث شده تا اثر آلفا پینن در کشندگی نمودی نداشته باشد. نقش آنتاگونیستی اسانس *O.persica* به قدری پررنگ است که مخلوط دو اسانس آنغوزه علی رغم اینکه اثر آنتاگونیستی دارند ولی در مقایسه با مخلوط سه اسانس، به طور معنی‌داری موثرتر بوده و قدرت کشندگی بیشتری دارد. البته در کنار بروز اثر آنتاگونیستی، ضعیف‌تر بودن قدرت کشندگی *O. persica* نیز نقش زیادی دارد. پائین بودن قدرت کشندگی *O. persica* به حدی است که از مخلوط سه اسانس، به طور معنی‌داری ضعیف‌تر عمل می‌کند و این نتیجه به معنای این است که دو گونه آنغوزه به مراتب قوی‌تر از گلدر عمل کرده و اثر آنتاگونیستی حاصل از اختلاط نتوانسته ضعف قدرت کشندگی گلدر را پوشش دهد.

اثر کشندگی Ferrula persica نه تنها از دیگر اسانس‌های مورد بررسی در این پژوهش به شکلی معنی‌دار بیشتر بود، بلکه از برخی اسانس‌های گیاهی مورد مطالعه به شیوه تدخینی علیه این آفت نیز به شکلی معنی‌دار بیشتر بود. از جمله دلایل اصلی این تفاوت می‌تواند وجود ترکیبات موثر متفاوت و احتمالاً با درصد بالاتر در اسانس این گیاه باشد. به عنوان مثال سمیت اسانس مزبور با LC_{50} معادل ۰/۰۵۴ میکرولیتر بر لیتر هوا از اسانس برگ درخت اکالیپتوس‌کامالدول، سرو مانتری، پوست میوه پرتقال رقم تامسون و نارنج علیه کنه تارتن دولکه‌ای که مقادیر LC_{50} آنها به ترتیب ۱/۶۵، ۲/۲۱، ۱۱/۱۳ و ۱۱/۸۹ میکرولیتر بر لیتر هوا بود، بیشتر بود (شریعتی و همکاران، ۱۳۹۲). همچنین سمیت تنفسی اسانس هل سبز علیه کنه تارتن دولکه‌ای برای بالغ‌ها ۷/۲۶ میکرولیتر بر لیتر هوا به ازای تلفات ۵۰ درصد، گزارش شد که بیانگر کشنده‌تر بودن Ferrula persica می‌باشد (Fatemikia et al., 2014). در پژوهشی دیگر سمیت تدخینی شش مونوترپن طبیعی شامل ۱ و ۸- سینئول[1] سیترونلا[2] لیمونن[3] آلفاپینن[4] پولگون[5] و ۴- ترپینئول[6] علیه ماده‌های بالغ کنه تارتن دولکه‌ای بررسی شدند. غلظت‌های کشنده پنجاه درصد به دست آمده به ترتیب ۶/۶۷، ۱۵/۲، ۱۰/۳۵، ۵/۹۹، ۳/۸۱ و ۱۱/۴۷ میلی‌گرم بر لیتر هوا بود (Abdelgaleil et al., 2019). نتایج پژوهش حاضر نیز نشان داد که میزان لیمونن و آلفاپینن در عصاره Ferrula persica بالا بوده است. غلظت‌های کشنده پنجاه درصد به دست آمده از اسانس زیره، میخک صدپر و نعنای دشتی به ترتیب ۳/۷۴، ۶/۱۳ و ۷/۵۳ میکرولیتر بر لیتر هوا بود که در بین آن‌ها اسانس زیره دارای بیشترین فعالیت کنه‌کشی بود. بیشترین ترکیب تشکیل دهنده اسانس زیره همانند اسانس F.persica آلفاپینن است (Kheradmand et al., 2015). در پژوهشی سمیت تماسی ۱۰ گیاه از خانواده Lamiaceae علیه کنه تارتن دولکه‌ای بررسی شد و مشخص شد که به دلیل وجود ترکیبات ۱، ۸ – سینئول و آلفاپینن در اسانس‌های آویشن شیرازی و نعناع فلفلی، این دو ترکیب سمیت بیشتری از بقیه ترکیبات دارند (کاوه و همکاران،۱۳۹۳)؛ از نظر وجود مواد موثر موجود در این اسانس‌ها و مشاهده بیشترین اثرات مربوط به این ترکیبات، نتایج پژوهش کاوه و همکاران با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

هر چند تفاوت در توان کشندگی ترکیبات گیاهی مختلف می‌تواند یکی از دلایل بروز تفاوت معنی‌دار بین Ferrula persica و سایر اسانس‌های آورده شده در این مقایسه‌ها باشد، اما نباید تأثیر عواملی چون شرایط متفاوت آزمایش و استفاده از جمعیت‌های با حساسیت متفاوت کنه که از مناطق مختلفی جمع‌آوری شده بودند مغفول بماند.

البته مواردی هم در پژوهش‌ها هستند که بیانگر قوی‌تر بودن اثر اسانس‌های دیگر نسبت به اسانس مورد نظر می‌باشند. به عنوان مثال نتایج نشان داد که اثر کنه‌کشی اسانس گیاه Peperomia pellucida علیه کنه تارتن دولکه‌ای به ازای ساقه و برگ این گیاه متفاوت می‌باشد. میزان LC_{50} اسانس ساقه ۰/۰۱ میکرولیتر بر لیتر هوا بوده و چهار برابر سمی‌تر از اسانس برگ

1 1,8-cineole
2 citronellal
3 limonene
4 α-pinene
5 pulegone
6 4-terpineol

با غلظت کشنده پنجاه درصد به میزان ۰/۰۴ میکرولیتر بر لیتر هوا می‌باشد. اسانس صمغ آنغوزه F.persica سمیتی شبیه برگ این گیاه دارد ولی نسبت به ساقه سمیت کمتری نشان می‌دهد (de Oliveira et al., 2017). همچنین در پژوهشی دیگر فعالیت کنه‌کشی ۱۱ اسانس گیاهی علیه کنه تارتن دولکه‌ای بررسی شد. نتایج نشان داد که در سمیت تنفسی، اسانس Mentha logifolia، سمیت بیشتری نسبت به بقیه اسانس‌ها داشت به طوری که LC_{50}های به دست آمده از گیاه Mentha logifolia، Mentha piperita، Cymbopogon flexuosus و Chrysopogox zizahioides به ترتیب ۱۱/۰۸، ۱۵/۸۶، ۱۷/۲۳ و ۱۸/۸۲ میلی‌گرم بر لیتر هوا بود ولی با این حال سمیت تنفسی اسانس F.persica از همه‌ی آنها کمتر بود (Reddy & Dolma, 2018).

نتیجه‌گیری و پیشنهادها

نتایج این پژوهش نشان داد که اسانس دو گونه آنغوزه به تفکیک، اثر کنه‌کشی مناسبی دارند و به مراتب بهتر از اسانس گلدر عمل می‌کنند. ضمن اینکه از بین این دو گونه، گونه *F.persica* خاصیت کنه‌کشی بیشتری نسبت به *F.assafoetida* دارا می‌باشد و با غلظت کشنده ۵۰ درصد پایینی که دارد، میتواند با پژوهش‌های تکمیلی، ترکیب مناسبی برای کاربرد در عرصه باشد. گونه *F.assafoetida* هر چند دارای قابلیت پژوهش‌های کاربردی برای کنترل این آفت مهم است ولی در بحث انتخاب بین این دو اسانس، قطعا اسانس موثرتر و مناسب‌تر *F.persica* می‌باشد. اختلاط دوتایی و نیز سه‌تایی این اسانس‌ها نه تنها بر قدرت حشره‌کشی مخلوط نمی‌افزاید، بلکه باعث بروز اثر آنتاگونیستی هم می‌شود و لذا بایستی از اختلاط این اسانس‌ها پرهیز کرد.

منابع

حریری‌مقدم، ف.، و خشاوه، ع. (۱۳۸۸). بررسی خواص کنه‌کشی عصاره گیاهان *Eucalyptus salmonophloia* و *Eucalyptus kingsmillii* روی کنه تارتن دولکه‌ای Koch *Tetranychus urticae*. *همایش ملی علوم آب، خاک، گیاه و مکانیزاسیون کشاورزی*، دزفول: دانشگاه آزاد اسلامی واحد دزفول.

رخشانی، ا. (۱۳۸۴). *اصول سم‌شناسی کشاورزی (آفت‌کش‌ها)*. زابل، ایران: انتشارات فرهنگ جامع.

روستا، س. (۱۳۹۵). اثر عصاره‌های گیاهی گلدر (Rydingia persica) و مورد (Myrtus communis) در کنترل Bemicia tabaci روی گوجه‌فرنگی در شرایط آزمایشگاهی. (پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز).

رئیسی‌نژاد دوبنه، س. (۱۳۹۶). اثرات کشندگی و دور کنندگی عصاره متانولی (Rydingia persica) و مورد (Myrtus communis) روی لمبه گندم (Trogoderma granarium). (پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز)، ۸۲ ص.

کاوه، م.، پورجواد، ن.، و خواجه‌علی، ج. (۱۳۹۳). بررسی سمیت تماسی ده اسانس از گیاهان خانواده نعناعیان روی کنه تارتن دولکه‌ای *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) . *تحقیقات آفات گیاهی*، ۴(۳): ۳۹-۴۹.

مزدایی، ا.، حسنی، م، ر.، و شیبانی‌تذرجی، ز. (۱۳۹۸). تأثیر دورکنندگی اسانس، عصاره و پودر بذر گیاه آنغوزه روی لارو سن چهارم و حشره کامل شب‌پره هندی *Plodia interpunctella* (Lep.: Pyralidae) . *فصلنامه تخصصی تحقیقات حشره‌شناسی*، ۱۱(۱)، ۵۳-۴۳.

مظفریان و. (۱۳۹۱). *شناخت گیاهان دارویی و معطر ایران*. تهران، ایران: انتشارات فرهنگ معاصر.

نوری‌قنبلانی، ق. (۱۳۸۰). *اکولوژی حشرات*. اردبیل، ایران: انتشارات دانشگاه محقق اردبیلی.

یوسف‌زاده، ف.، جبله، ع.، اولیایی‌ترشیز، ع.، و احمدیان، ا. (۱۳۹۷). بررسی کنه‌کشی ترکیبات گیاهی و شیمیایی بر کنه زعفران *Rhizoglyphus robini* در شرایط آزمایشگاهی. *نشریه زراعت و فناوری زعفران*. ۶(۴): ۴۸۷-۴۹۷.

REFERENCES

Abdelgaleil, S. A., Badawy, M. E., Mahmoud, N. F., & Marei, A. E. S. M. (2019). Acaricidal activity, biochemical effects, and molecular docking of some monoterpenes against the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, *156*, 105-115.

Al-Hazimi, H. M. (1986). Terpenoids and coumarins from *Ferula sinaica*. *Phytochemistry, 25*(10), 2417-2419.

Appendino, G., Tagliapietra, S., Nano, G. M., & Jakupovic, J. (1993). Sesquiterpene coumarin ethers from asafetida. *Phytochemistry*, *35*(1), 183-186.

Bahrami, R., Kocheili, F., & Ziaee, M. (2016). Fumigant toxicity and persistence of essential oils from asafetida, geranium, and walnut on adults of *Rhyzopertha dominica* (Col.: Bostrichidae). *Toxin Reviews*, *35*(3-4), 63-68.

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils–a review. *Food and Chemical Toxicology*, *46*(2), 446-475.

Benavides, V., D'Arrigo, G., & Pino, J. (2010). Effects of aqueous extract of *Origanum vulgare* L.(Lamiaceae) on the preimplantational mouse embryos. *Revista Peruana de Biología*, *17*(3), 381-384.

de Oliveira, J. C. S., da Camara, C. A., Neves, R. C. S., & Botelho, P. S. (2017). Chemical composition and acaricidal activity of essential oils from *Peperomia pellucida* against *Tetranychus urticae*. *Revista virtual De Quimica*, *9*(6), 2204-2213.

Ebadollahi, A., Sendi, J. J., Maroufpoor, M., & Rahimi-Nasrabadi, M. (2017). Acaricidal potentials of the terpene-rich essential oils of two Iranian *Eucalyptus* species against *Tetranychus urticae* Koch. *Journal of Oleo Science*, *66*(3), 307-314.

Evans, W., & Trease, G. (2002). Volatile oils and resins. *Trease and Evans Pharmacognosy*, 253-288.

Fatemikia, S., Abbasipour, H., Karimi, J., Saeedizadeh, A., & Gorjan, A. S. (2014). Efficacy of *Elettaria cardamomum* L. (Zingiberaceae) essential oil on the two spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, *47*(8), 1008-1014.

Ferrero, M., Calvo, F., Atuahiva, T., Tixier, M.-S., & Kreiter, S. (2011). Biological control of *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard and *Tetranychus urticae* Koch by *Phytoseiulus longipes* Evans in tomato greenhouses in Spain [Acari: Tetranychidae, Phytoseiidae]. *Biological Control*, *58*(1), 30-35.

Ghannadi, A., Fattahian, K., Shokoohinia, Y., Behbahani, M., & Shahnoush, A. (2014). Anti-viral evaluation of sesquiterpene coumarins from *Ferula assa-foetida* against HSV-1. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, *13*(2), 523-530.

Goldansaz, S., Talaei, L., Poorjavad, N., & Dehghani, Y. (2012). *Inhibition of carob moth damage using Ferula assafoetida essential oil in pomegranate orchards of Iran.* Paper presented at the 2th International symposium on the pomegranate.

Hariri-Moghaddam, F., & Khashveh, A. (2009). Investigating the acaricidal properties of *Eucalyptus salmonophloia* and *Eucalyptus kingsmillii* plant extracts on *Tetranychus urticae* Koch. National Conference on Water, Soil, Plant and Agricultural Mechanization Sciences, Dezful: Islamic Azad University, Dezful branch.

Isman, M. (1999). Pesticides based on plant essential oils. *Pesticide Outlook (United Kingdom)*.

Isman, M. B. (2000). Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection, 19*(8-10), 603-608.

Janssen, A., Bruin, J., Jacobs, G., Schraag, R., & Sabelis, M. W. (1997). Predators use volatiles to avoid prey patches with conspecifics. *Journal of Animal Ecology*, *66*(2), 223-232.

Javidnia, K., Miri, R., Kamalinejad, M., & Edraki, N. (2005). Chemical composition of *Ferula persica* Wild. essential oil from Iran. *Flavour and Fragrance Journal*, *20*(6), 605-606.

Kajimoto, T., Yahiro, K., & Nohara, T. (1989). Sesquiterpenoid and disulphide derivatives from *Ferula assa-foetida*. *Phytochemistry, 28*(6), 1761-1763.

Kanani, M. R., Rahiminejad, M. R., Sonboli, A., Mozaffarian, V., Kazempour Osaloo, S., & Nejad Ebrahimi, S. (2011). Chemotaxonomic significance of the essential oils of 18 *Ferula* species (Apiaceae) from Iran. *Chemistry & Biodiversity*, *8*(3), 503-517.

Kaveh, M., Poorjavad, N., & Khajehali, 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.

Kavianpour, M., Dabbagh, G. R., Taki, M., Shirdeli, M., & Mohammadi, S. (2014). Effect of fresh gum of assafoetida on the damage reduction of pomegranate fruit moth, *Ectomyelois ceratoniae* (Lep., Pyralidae) in Shahreza City. *International Journal of Biosciences*, *5*(5), 86-91.

Khan, A., Ahmad, V. U., Farooq, U., Bader, S., & Arshad, S. (2009). Two New flavonol glycosides from *Otostegia limbata* Benth. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, *57*(3), 276-279.

Kheradmand, K., Beynaghi, S., Asgari, S., & Sheykhi Garjan, A. (2015). Toxicity and Repellency Effects of Three Plant Esse ntial Oils Against Two-spotted Spider Mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Agricutural Science and Technology*, *17*, 1223-1232.

Le Dang, Q., Choi, Y. H., Choi, G. J., Jang, K. S., Park, M. S., Park, N. J., Lim, C. H., Kim, H., Ngoc, L. H., & Kim, J. C. (2010). Pesticidal activity of ingenane diterpenes isolated from *Euphorbia kansui* against *Nilaparvata lugens* and *Tetranychus urticae*. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, *13*(1), 51-54.

Mazdaee, A., Hassani, M., R., & Sheibani Tezerji, Z. (2019) Repellency effect of essential oil, plant extract and powder of seed of *Ferula assafoetida* on *Plodia interpuntella* (Lep.: Pyralidae). *Journal of Entomological Research*, *11*(1), 43-53.

Mozaffarian, V. A. (1996). *Dictionary of Iranian Plant Names*. Tehran, Iran: Farhang Moaser.

Mozaffarian, V. (2012) Knowing the medicinal and aromatic plants of Iran. Tehran, Iran: Farhang Jame Press.

Naghibi, F., Mosaddegh, M., Mohammadi Motamed, M., & Ghorbani, A. (2010). Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 63-79.

Nouri- Ghanbalani, Gh. (2001) Insect ecology. Ardabil, Iran: Mohaghegh Ardabili University Press.

Raeisinejad Dobone, S. (2017) Killing and repellent effects of methanol extract (*Rydingia persica*) and *Myrtus communis* on *Trogoderma granarium*. (MSc. Thesis, Faculty of Agriculture, Shiraz University), 82 p.

Rajanikanth, B., Ravindranath, B., & Shankaranarayana, M. (1984). Volatile polysulphides of asafoetida. *Phytochemistry*, *23*(4), 899-900.

Rakhshani, E. (2005). Principles of agricultural toxicology (pesticides). Zabol, Iran: Farhang Jame Press.

Reddy, S. E., & Dolma, S. K. (2018). Acaricidal activities of essential oils against two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch. *Toxin Reviews*, *37*(1), 62-66.

Roosta, S. (2016). Effect of plant extracts of *Rydingia persica* and *Myrtus communis* in controlling *Bemicia tabaci* on tomato in laboratory conditions. (MSc. thesis, Faculty of Agriculture, Shiraz University).

Salari, E., Ahmadi, K., & Zamani, R. (2010). Study on the effects of acetonic extract of *Otostegia Persica* (Labiatae) on three aphid species and one stored product pest. *Advances in Environmental Biology*, 346-350.

Schmutterer, H. (1990). Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. *Annual Review of Entomology*, *35*(1), 271-297.

Shafiei, F., Ahmadi, K., & Asadi, M. (2018). Evaluation of systemic effects of four plant extracts compared with two systemic pesticides, acetamiprid and pirimicarb through leaf spraying against *Brevicoryne brassicae* L.(Hemiptera: Aphididae). *Journal of Plant Protection Research*, *58*(3), 257-264.

Sun, Y.-P., & Johnson, E. (1960). Analysis of joint action of insecticides against house flies. *Journal of Economic Entomology*, *53*(5), 887-892.

Takeoka, G. R., Güntert, M., & Engel, K.-H. (2001). *Aroma active compounds in foods*: American Chemical Society.

Tamemoto, K., Takaishi, Y., Kawazoe, K., Honda, G., Ito, M., Kiuchi, F., Takeda, Y., Kodzhimatov, O. K., Ashurmetov, O., Shimizu, K., Nagasawa, H., Uto, Y., & Hori, H. (2002). An unusual sesquiterpene derivative from *Ferula kuhistanica*. *Journal of Natural Products*, *65*(9), 1323-1324.

Thomas, C. J., & Callaghan, A. (1999). The use of garlic (Alliumsativa) and lemon peel (*Citrus limom*) extracts as *Culex pipiens* larvacides: Persistence and interaction with an organophosphate resistance mechanism. *Chemosphere*, *39*(14), 2489-2496.

Whalon M.E., Mata-Sanehez D., Hollingworth R.M., & Daynsalager, L. (2012). Arthropoda pesticide resistence database. (available at: http:// www.pesticide resistance.org).

Yassa, N., Sharififar, F., & Shafiee, A. (2005). *Otostegia persica*. as a Source of Natural Antioxidants. *Pharmaceutical Biology*, *43*(1), 33-38.

Yousofzadeh, F., Gabaleh, I., Olyaie Torshiz, A, & Ahmadian, A. (2019) Investigation of acaricide of vegetative materials and acaricide on control of saffron mite *Rhizoglyphus robini* in laboratory condition. *Saffron Agronomy and Technology*, *6*(4), 487-497.