

بررسی اثر سینرژیستی دو مونوترپنوئید ژرانیول و بتا سیترونلول بر روی لارو پشه کولکس در شرایط برون تنی

آرین اسفندیاری (MSc)^۱، محمد محسن همایونی (PhD)^{۲*}، محمد رضا یوسفی (PhD)^۳، محمد رضا پرویزی (PhD)^۴، محسن کرمی (PhD)^۵

۱- گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارتش، تهران، ایران

۲- گروه انگل شناسی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران

۳- گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارتش، تهران، ایران

۴- گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

دریافت: ۹۸/۴/۶، اصلاح: ۹۸/۷/۱۰، پذیرش: ۹۸/۱۰/۲۳

خلاصه

سابقه و هدف: حشرات عامل گسترش بیش از حد انگل ها و پاتوژن ها می باشند. کنترل جمعیت حشرات با چالش های افزایش مقاومت به آفت کش های شیمیایی و خطرات زیست محیطی ناشی از آن ها مواجه است. از این رو استفاده از حشره کش های طبیعی حائز اهمیت است. هدف از این مطالعه بررسی اثر سینرژیستی ژرانیول و بتاسیترونلول بر روی لارو پشه کولکس پپینس کمپلکس می باشد.

مواد و روش ها: در این مطالعه مقطعی، نمونه ها از اینسکتاریوم دانشگاه علوم پزشکی بابل تهیه شدند. عملکرد ژرانیول، بتاسیترونلول و ترکیب آن ها با نسبت های ۴:۱، ۳:۲، ۲:۳ و ۱:۴ مجموعاً در ۶ گروه بر روی لاروهای مرحله سوم پشه کولکس پپینس کمپلکس در غلظت های ۰/۵، ۱، ۲، ۵، ۱۰ و ۲۰ میکروگرم بر میلی لیتر با ۵ تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت. برای تعیین مرده یا زنده بودن لاروها از تست نیدل استفاده شد. سپس میزان LC50 هر یک از گروه ها پس از گذشت ۲۴ ساعت ثبت شد. **یافته ها:** بیشترین مرگ و میر لاروها مربوط به گروه ژرانیول با LC50 برابر با ۴۸/۱ μg/ml بود. در حالیکه بتاسیترونلول با LC50 برابر با ۴۹/۱۰ μg/ml کمترین دوز سمی را به خود اختصاص داد. در میان چهار نسبت ترکیبی ژرانیول-بتاسیترونلول بیشترین سمیت مربوط به نسبت ۱:۴ و کمترین سمیت مربوط به نسبت ۴:۱ با میزان LC50 به ترتیب ۳/۳۲ و ۷/۷۱ μg/ml بود و در تمامی نسبت ها اثر آنتاگونیستی مشاهده شد (p<۰/۰۵).

نتیجه گیری: نتایج مطالعه حاضر اثرات آنتاگونیستی ترکیب ژرانیول با بتاسیترونلول را روی لاروهای پشه کولکس پپینس کمپلکس نشان داد.

واژه های کلیدی: ژرانیول، بتا سیترونلول، کولکس، حشره کش.

مقدمه

نخستین راه های مقابله با پشه ها استفاده از موادشیمیایی سنتتیک می باشد، اما استفاده بیش از حد این مواد سبب ایجاد مقاومت در این موجودات می شود. علاوه بر این، حشره کش های شیمیایی دارای اثرات سمی و زیان بار برای انسان و محیط زیست با آلوده کردن خاک، آب و هوا می باشند (۴). این مشکلات نیازمند تحقیقات گسترده به منظور تولید محصولات جدید می باشد که علاوه بر ایمن و بی ضرر بودن برای محیط زیست، قابل تجزیه در محیط هم باشند (۵). به نظر می رسد اسانس ها و عصاره های گیاهی بتوانند جایگزین مناسبی برای حشره کش ها باشند، زیرا موثر، بدون تأثیرات سوء محیطی، تجزیه پذیر و ارزان هستند. اسانس های تولید شده از گیاهان معطر حاوی طیف وسیعی از ترکیبات زیستی فعال می باشند که عمده آن را ترپنوئیدها تشکیل می دهند. ترپنوئیدها به عنوان ترکیبات سمی حاد علیه حشرات گزارش شده اند (۶). بر همین اساس در زمینه کنترل حشرات مطالعات متعددی صورت گرفته و سمیت اسانس ها و ترپنوئیدها را روی گونه های مختلف

پشه ها ناقل انواع مختلفی از پاتوژن های انسانی، حیوانی و انگل ها به شمار می آیند. در این میان، جنس کولکس در رتبه دوم انتقال دهنده بیماری ها در بین مهره داران در کشورهایی که دارای آب و هوای گرمسیری و نیمه گرمسیری اند، قرار دارد (۱). جمعیت پشه کولکس پپینس دارای توزیع جغرافیایی گسترده است و در سراسر دنیا در مناطق شهری و غیر شهری، گرمسیری و استوایی یافت می شود و در این مناطق می تواند ناقل اصلی بیماری ها باشد. در واقع کولکس پپینس نقش مهمی در انتقال تعدادی از پاتوژن ها و انگل هایی که انسان را آلوده می کنند، از جمله مالاریا، ویروس نیل غربی، تب دنگ، ویروس آنسفالیت سنت لوئیس، فیلاریازیس و غیره دارد (۲). از سال ۱۹۷۰ تاکنون میزان شیوع تب دنگ به چهار برابر افزایش یافته و تقریباً نیمی از جمعیت جهان در معرض خطر قرار دارند. در سال ۱۹۹۰ تخمین زده شد که تقریباً ۳۰٪ جمعیت جهان، معادل ۱/۵ میلیارد نفر، در مناطقی زندگی می کردند که خطر ابتلا به تب دنگ در آنها بالای ۵۰٪ بود (۳). یکی از

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی به شماره IR.AJAUMS.REC.1397.093 دانشگاه علوم پزشکی ارتش می باشد.

* مسئول مقاله: دکتر محمد محسن همایونی

آدرس: تهران، دانشگاه علوم پزشکی ارتش، دانشکده پزشکی، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی. تلفن: ۰۲۱-۸۸۰۲۸۵۰۰-۶

E-mail: m.homayoni@sbmu.ac.ir

پشه‌ها مورد ارزیابی قرار داده‌اند و سعی در استفاده از آن‌ها به عنوان یک منبع بالقوه و جدید به منظور کنترل بیماری‌ها، از طریق کنترل جمعیت پشه‌ها دارند (۷). جمعیت لاروهای پشه هدف اکثر برنامه‌های کنترل است، زیرا از بین بردن بالغین ممکن است بطور موقت جمعیت آن‌ها را کاهش دهد و هزینه بیشتری هم دارد (۸). مورد هدف قرار دادن لارو پشه بیشتر کارآمد بوده و به جلوگیری از شیوع ناقلین کمک خواهد کرد (۹). Zahran و همکاران در سال ۲۰۱۱ اثر کشندگی ۱۲ مونوترین، از جمله ژرانیول را روی پشه‌های بالغ کولکس پیپینس مورد ارزیابی قرار دادند (۱۰) در ادامه Abouhosseini Tabar و همکاران اثر اسانس شمعدانی عطری را روی پشه‌های بالغ و تخم کولکس مورد ارزیابی قرار دادند (۱۱). Youssefi و همکاران نیز به بررسی اثرات سینترژیستی دو مونوترین کارواکرول و تیمول بر روی لاروها و تخم‌های پشه کولکس پرداختند (۱۲).

مونوترین‌ها اجزای اصلی اکثر اسانس‌های گیاهی می‌باشند و دارای فعالیت‌های آفت‌کشی، از جمله خواص حشره‌کشی، ضد قارچی و ضد باکتریایی می‌باشند (۱۳). مطالعات متعددی بر روی خواص حشره‌کشی اسانس‌ها علیه گونه‌های مختلف پشه صورت گرفته است. با این وجود، مطالعات کمی اثر حشره‌کشی مونوترین‌ها را در برابر پشه نشان داده‌اند. ژرانیول و بتاسیترونلول مونوترین‌هایی هستند که در اسانس گیاهانی مانند شمعدانی عطری (*Pelargonium roseum*) و *Rosa damascena* Mill به وفور یافت می‌شوند (۱۱) و باتوجه به بوی دلپذیر در صنعت عطرسازی بسیار مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱۴). علاوه بر این، ژرانیول در درمان سرطان (پروستات) نقش داشته (۱۵) و بتاسیترونلول به عنوان یک عامل دورکننده سبب دفع کنه‌های ریپسفالوس و آمیلیوما می‌شود (۱۶) و به دلیل خاصیت کشندگی زیاد این دو مونوترین می‌توانند گزینه‌ی خوبی بعنوان حشره‌کش باشند (۱۱).

هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات سینترژیستی ترکیب ژرانیول و بتاسیترونلول و پیدا کردن موثرترین نسبت ترکیبی بین ژرانیول و بتاسیترونلول بر روی لارو کولکس در شرایط آزمایشگاه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه مقطعی پس از کسب مجوز از کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی ارتش جمهوری اسلامی ایران با کد، IR.AJAUMS.REC.1397.093 بر روی لارو کولکس پیپینس کمپلکس صورت گرفت. تشخیص گونه نیز توسط دکتر کرمی، متخصص حشره‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی بابل انجام گرفت. ژرانیول با کد ۱۰۶-۲۴-۱ و بتا سیترونلول با کد ۱۰۶-۲۲-۹ از شرکت سیگما خریداری شد. پشه‌ها در قفس‌هایی با درجه حرارت 25 ± 2 درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی 80 ± 2 درصد و دوره نور: تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت در اینسکتاریوم دانشگاه علوم پزشکی بابل نگهداری شدند. پشه‌های ماده بالغ در پتری دیش‌هایی به قطر ۹ سانتی متر و عمق ۱/۵ سانتی متر که حاوی آب شیرین بودند تخم گذاری کردند. تخم‌ها روزانه جمع آوری شده و برای هچ شدن (hatching eggs) به سینی‌ها انتقال داده شدند. سوسپانسیون مخمر ۵ درصد به عنوان منبع غذایی مورد استفاده قرار گرفت. فعالیت لارو کشی گروه ژرانیول و بتاسیترونلول بر اساس پروتکل WHO (سازمان جهانی بهداشت) مورد ارزیابی قرار گرفت. ترکیبات مورد آزمایش در این دو گروه در ۶ غلظت ۰/۵، ۱، ۲، ۵، ۱۰ و ۲۰ $\mu\text{g/ml}$ (میکروگرم بر میلی لیتر) برای بررسی

اثرات لارو کشی در آب شیرین حل شدند. هر یک از ترکیبات ابتدا در ۱ ml (میلی لیتر) DMSO (دی متیل سولفوکسید) به عنوان امولسیفایر حل شده و سپس در ۲۴۹ ml آب شیرین برای رسیدن به هر یک از غلظت‌های مورد نظر رقیق شدند. کنترل با استفاده از ۱ میلی لیتر DMSO در ۲۴۹ ml آب تهیه شد. ۲۰ عدد لارو مرحله سوم پشه کولکس پیپینس کمپلکس در هر یک از غلظت‌های مورد نظر قرار داده شد. برای هر غلظت ۵ تکرار انجام شد. بعد از ۲۴ ساعت توسط زدن نوک نیدل به سیفون تنفسی یا گردن لاروها و مشاهده واکنش یا عدم واکنششان به محرک از مرده یا زنده بودن آنها اطمینان حاصل شد و نتایج بدست آمده ثبت گردید (۱۷).

در مرحله دوم آزمایشات، برای تعیین اثر سینترژیک یا آنتاگونیستی ترکیب ژرانیول و بتاسیترونلول، بر اساس روش نسبت‌های ثابت (fixed ratio method) چهار نسبت ژرانیول-بتاسیترونلول ۴:۱، ۳:۲، ۲:۳ و ۱:۴ برای بررسی سمیت ترکیبات روی لارو کولکس پیپینس کمپلکس مورد آزمایش قرار گرفتند. برای هر یک از نسبت‌های دوتایی مراحل رقیق سازی مطابق مرحله قبل در ۶ غلظت صورت گرفت تا غلظت‌های نهایی از رنج ۰/۵ تا ۲۰ $\mu\text{g/ml}$ مورد استفاده قرار گیرند. برای هر نسبت ترکیبی مورد آزمایش ۵ تکرار انجام گرفت و حداقل غلظتی که سبب کشته شدن ۵۰ درصد جمعیت می‌شود (LC50) و شاخص FLC برای هر نسبت مطابق با اصلاح کمی محاسبه شد (۱۸). شاخص FLC بر اساس فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{FLC index} = \text{LC50 A in combination} / \text{LC50A alone} + \text{LC50 B in combination} / \text{LC50B alone}$$

شاخص FLC برابر با ۰/۱ نشان‌دهنده اثر افزایشدهنده، $\text{FLC} < 0/1$ نشان‌دهنده اثر سینترژیک، و $\text{FLC} > 0/1$ نشان‌دهنده اثر آنتاگونیستی است (۱۹). اطلاعات بدست آمده با توجه به رقت‌های مورد مطالعه در نمودار ایزوبلوگرام آمده است. تجزیه و تحلیل آماری: جهت انجام بررسی آماری از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ استفاده شد. برای دستیابی به مقدار غلظت کشنده ۵۰ (LC50) و ۹۰ (LC90) از آزمون آماری رگرسیون Probit استفاده شد. داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (One way-ANOVA) و تست تعقیبی Tukey تجزیه و تحلیل شدند و $p < 0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

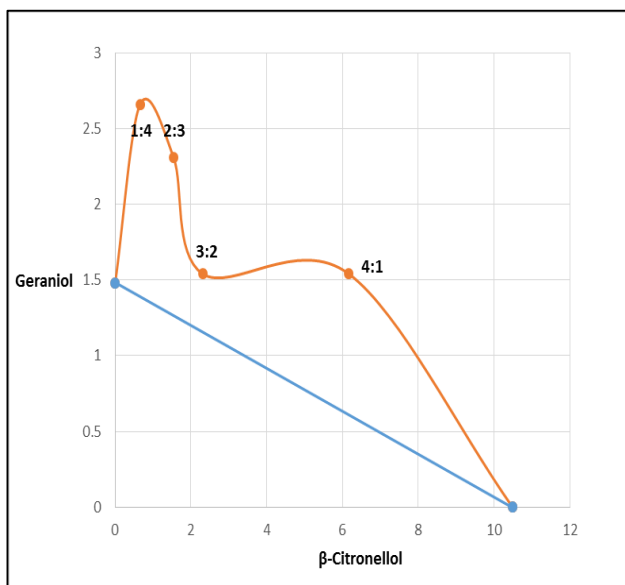
در طی این مطالعه ۸۰٪ مرگ و میر لاروها بعد از ۲۴ ساعت قرار گرفتن در معرض ۲ $\mu\text{g/ml}$ ژرانیول، مشاهده شد، در حالیکه در بتاسیترونلول با همان غلظت و همچنین در گروه کنترل هیچ مرگ و میری دیده نشد ($p < 0/05$). نتایج حاصل از آنالیز به روش probit در مورد خاصیت لارو کشی، نشان داد که مقادیر LC50 و LC90 ژرانیول به ترتیب ۱/۴۸ و ۲/۱۹ $\mu\text{g/ml}$ بوده، در حالیکه LC50 و LC90 برای بتاسیترونلول به ترتیب ۱۰/۴۹ و ۱۵/۸۲ $\mu\text{g/ml}$ بود (جدول ۱). نتایج تجزیه و تحلیل کمی از LC50 سمیت ترکیبات ژرانیول و بتاسیترونلول و شاخص FLC آنها در جدول ۲ ارائه شده است. روند اثر متقابل بین ترکیب بتاسیترونلول-ژرانیول علیه لاروهای مرحله سوم کولکس پیپینس با روش نسبت‌های ثابت مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و در نمودار ایزوبلوگرام نشان داده شده است (نمودار ۱). در تمامی نسبت‌ها اثر آنتاگونیستی وجود داشت. نسبت ۴:۱

لارو کولکس پیپینس نشان داد ($p < 0.05$)، به طوری که با افزایش میزان بتاسیترونلول در ترکیب اثر آنتاگونیستی آن افزایش یافت.

بتاسیترونلول-ژرانیول با شاخص $FLC = 1/85$ و LC_{50} برابر با $3/32 \mu g/ml$ نسبت به سایرین بیشترین اثر را داشت ولی در برابر ژرانیول اثر ضعیف تری را علیه

جدول ۱. مقایسه فعالیت لاروکشی بتاسیترونلول و ژرانیول علیه لارو کولکس پیپینس

ترکیبات	غلظت ($\mu g/ml$)	SE $\pm$ میزان مرگ و میر (%)	میزان مرگ و میر در گروه کنترل	LC50 ($\mu g/ml$) (LCL-UCL %95)	LC90 ($\mu g/ml$) (LCL-UCL %95)
بتا سیترونلول	0/5	± 0	.	10/49	15/82
	1	± 0	.	(8/93-13/85)	(12/88-23/86)
	2	± 0	.		
	5	$13/33 \pm 3/33$	.		
	10	$43/33 \pm 6/60$	.		
	20	100 ± 0	.		
ژرانیول	0/5	± 0	.	1/48	2/19
	1	$26/66 \pm 3/33$	.	(1/29-1/7)	(1/92-2/65)
	2	80 ± 10	.		
	5	100 ± 0	.		
	10	100 ± 0	.		
	20	100 ± 0	.		



نمودار ۱. ایزوبلوگرام ترکیب بتاسیترونلول-ژرانیول

جدول ۲. نتایج لارو کشی بدست آمده از ترکیب ژرانیول-بتاسیترونلول به وسیله

روش نسبت های ثابت

نسبت ها	LC50 ($\mu g/ml$) (95% LCL-UCL)	FLC index* لارو
1:4 ژرانیول-بتا سیترونلول	3/32 (3/21-4/11)	1/85 ^a
2:3	3/85 (2/8-4/8)	1/7 ^a
3:2	5/37 (4/31-6/21)	1/26 ^b
4:1	7/71 (6/59-8/34)	1/63 ^a

حروف غیرمشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار میان تیمارها می باشند. $p < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شده است.

*FLC index: = LC_{50} geraniol in combination / LC_{50} geraniol alone + LC_{50} β -citronellol in combination / LC_{50} β -citronellol alone

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه مشخص گردید که ترکیب ژرانیول و بتاسیترونلول در مقایسه با ژرانیول تاثیر کمتری بر روی لاروهای مرحله سوم کولکس از خود نشان داد. Cheng و همکاران نشان دادند که اسانس برگ گیاه دارچین (*Cinnamomum osmophloeum*) اثرات لاروکشی روی پشه آندس اجبیتی دارد. آن‌ها نشان دادند که جز اصلی این اسانس، سینما آلهید می باشد

که بیشترین اثر را علیه لاروهای آندس دارد (۲۰). مطالعه مشابهی توسط Mukandiwa و همکاران روی عصاره استخراج شده از *C. anisata* صورت گرفت و مرگ و میر لاروهای مرحله سوم پشه آندس اجبیتی با مقادیر LC_{50} برابر با $68/3$ و $59/7$ ppm به ترتیب بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت نشان داده شد. پیرانوگومارین و سزلین جدا شده از همان عصاره در همان مطالعه دارای LC_{50} با مقادیر $13/9$ و 10 ppm به ترتیب بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت بود (۲۱). در حالی که

در مطالعه حاضر نسبت ترکیبی ۱:۴ ژرانیول- بتاسیترونلول اثر بهتری را روی لاروهای کولکس با LC50 برابر با ۳۲/۳ $\mu\text{g/ml}$ از خود نشان داد که احتمال دارد به دلیل حساسیت بیشتر این گونه باشد. Mavundza و همکاران نشان دادند که عصاره اتانولی استخراج شده از برگ *Clausena anisata* باعث مرگ لاروهای پشه *Anopheles arabiensis* با مقادیر LC50 برابر با ppm ۷/۱۱۲ می‌شود (۲۲). در مطالعه حاضر نیز میزان کشندگی ترکیب ژرانیول و بتاسیترونلول بر لاروهای پشه کولکس پیپینس کمپلکس نشان داده شده است. مطابق با یافته‌های ما، Traboulsi و همکاران اثر لاروکشی اسانس‌های *Mentha*, *Origanum syriacum*, *Myrtus communis* و *Pistacia lentiscus* و *Lavandula stoechas* علیه لاروهای سن چهارم پشه کولکس پیپینس، با مقادیر LC50 بین ۱۶ تا ۸۹ mg/L را نشان دادند (۲۳).

با توجه به سایر گونه‌های کولکس، اثر لاروکشی اسانس *Plectranthus barbatus* علیه کولکس *tritaeniorhynchus* با مقادیر LC50 و LC90 به ترتیب ۹۴/۳۴ و ۱۷۹/۵۸ $\mu\text{g/ml}$ مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین میزان سمیت اجزای اصلی این اسانس که شامل *eugenol*، آلفاپینن و β -*caryophyllene* بودند، علیه لارو کولکس *tritaeniorhynchus* و با مقادیر LC50 به ترتیب ۳۰/۸۰، ۳۶/۷۵ و ۴۸/۱۷ $\mu\text{g/ml}$ برای این ترکیبات بررسی شد (۲۴). این درحالی است که در مطالعه حاضر ترکیب ژرانیول با بتاسیترونلول در نسبت ۱:۴ اثرات بهتر و قوی‌تری را نسبت به اسانس‌های استفاده شده در مطالعات فوق از خود نشان داد. Abouhosseini Tabari و همکاران نشان دادند که اسانس شمعدانی عطری اثر لاروکشی خوبی با LC50 $\mu\text{g/ml}$

۴۹/۵ علیه لارو مرحله ۳ کولکس پیپینس دارد (۱۱). مطالعه حاضر نشان داد که در میان ترکیبات مورد آزمایش بیشترین اثر بخشی مربوط به ژرانیول با LC50 برابر با ۴۸/۱ $\mu\text{g/ml}$ می‌باشد و ترکیب آن با بتاسیترونلول سبب کاهش سمیت آن‌ها می‌شود، به طوری که با افزایش میزان بتاسیترونلول میزان اثرگذاری کمتر می‌شود. این ممکن است به علت اثر آنتاگونیستی بین این دو ترکیب باشد و به همین دلیل می‌باشد که ژرانیول به تنهایی از اسانس شمعدانی عطری اثرگذاری بهتری دارد. روش نسبت‌های ثابت و نمودار ایزوبلوگرام حاصل از ترکیب ژرانیول-بتاسیترونلول در مطالعه حاضر آمده است و نشان داده شده که سمیت ژرانیول در حضور بتاسیترونلول کاهش می‌یابد. در مقایسه با یافته‌های ما، Karpouhtsis و همکاران نشان دادند که ترکیب کارواکرول و تیمول، اجزای اصلی اسانس پونه کوهی، منجر به کاهش فعالیت حشره‌کشی شده و به این نتیجه رسیدند که این دو فنول اثر آنتاگونیستی نسبت به یکدیگر دارند (۲۵).

در مجموع، مطالعه حاضر اثرات آنتاگونیستی ترکیب ژرانیول با بتاسیترونلول را بر روی لارو پشه کولکس نشان داد، لذا پیشنهاد می‌گردد که اثر ترکیبی این دو مونوترپن با سایر مونوترپن‌ها جهت بررسی اثرات آگونیستی و آنتاگونیستی مورد ارزیابی قرار گیرد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از آقای مهندس نورالدین سلیمانی کارشناس بخش انگل‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل که در انجام این تحقیق ما را یاری نمودند تقدیر و تشکر می‌گردد.

Evaluation of Synergistic Effects of Two Monoterpenoids of Geraniol and B-Citronellol on Culex Larvae in Vitro

A. Esfandiari (MSc)¹, M.M. Homayouni (PhD)^{*1}, M.R. Youssefi (PhD)², M.R. Parvizi (PhD)³,
M. Karami (PhD)⁴

1.Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, AJA University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran

2.Department of Parasitology, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, I.R.Iran

3.Department of physiology, Faculty of Medicine, AJA University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran

4.Department of parasitology and mycology, Faculty of Medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 22; 2020; PP: 341-347

Received: Jun 27th 2019, Revised: Oct 2nd 2019, Accepted: Jan 13rd 2020.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Insects are the cause of excessive spread of parasites and pathogens. Insect population control faces the challenges of increasing resistance to chemical pesticides and the environmental hazards posed by them. Therefore, the use of natural insecticides is important. The aim of this study was to investigate the synergistic effect of geraniol and betacitronellol on the larvae of Culex Pippins complex.

METHODS: In this cross-sectional study, samples were taken from the Insectarium of Babol University of Medical Sciences. Yield of geraniol, betacitronellol and their combination in ratios of 4:1, 3:2, 2:3 and 1:4 in a total of 6 groups on the larvae of the third stage of the mosquito culex Pippins complex at concentrations of 0.5, 1, 2, 5, 10 and 20 μ g/ml were evaluated with 5 replications. Needle test was used to determine whether the larvae were dead or alive. The LC50 of each group was then recorded after 24 hours.

FINDINGS: The highest mortality of larvae belonged to the geraniol group with LC50 equal to 48.1 μ g/ml. While betacitronellol with LC50 equal to 49.10 μ g/ml had the lowest toxic dose. Among the four combined ratios of geraniol-betacitronellol, the highest toxicity was related to the ratio of 1:4 and the lowest toxicity was related to the ratio of 4:1 with LC50 of 3.32 and 7.71 μ g/ml, respectively, and antagonistic effect was observed in all ratios ($p < 0.05$).

CONCLUSION: The results of the present study showed the antagonistic effects of the combination of geraniol with betacitronellol on mosquito larvae of Culex Pippins complex.

KEY WORDS: Geraniol, β -citronellol, Culex, Insecticide.

Please cite this article as follows:

Esfandiari A, Homayouni MM, Youssefi MR, Parvizi MR, Karami M . Evaluation of Synergistic Effects of Two Monoterpenoids of Geraniol and B-Citronellol on Culex Larvae in Vitro. J Babol Univ Med Sci. 2020;22: 341-7.

***Corresponding Author: M.M. Homayouni (PhD)**

Address: Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, AJA University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran

Tel: +98 21 88028350-6

E-mail: m.homayoni@sbmu.ac.ir

References

1. Pavela R. Acute toxicity and synergistic and antagonistic effects of the aromatic compounds of some essential oils against *Culex quinquefasciatus* Say larvae. *Parasitol Res.* 2015;114(10):3835-53.
2. Ward M, Benelli G. Avian and simian malaria: do they have a cancer connection?. *Parasitol Res.* 2017;116(3):839-45.
3. Hales S, de Wet N, Maindonald J, Woodward A. Potential effect of population and climate changes on global distribution of dengue fever: an empirical model. *Lancet.* 2002;360(9336):830-4.
4. Benelli G. Research in mosquito control: current challenges for a brighter future. *Parasitol Res.* 2015;114(8):2801-5.
5. Benelli G, Beier JC. Current vector control challenges in the fight against malaria. *Acta Trop.* 2017;174:91-6.
6. Pavela R, Benelli G. Ethnobotanical knowledge on botanical repellents employed in the African region against mosquito vectors - A review. *Exp Parasitol.* 2016;167:103-8.
7. Abouhosseini Tabari M, Youssefi MR, Barimani A, Araghi A. Carvacrol as a potent natural acaricide against *Dermanyssus gallinae*. *Parasitol Res.* 2015;114(10):3801-6.
8. Pavela R. Essential oils for the development of eco-friendly mosquito larvicides: A review. *Ind Crop Prod.* 2015;76:174-87.
9. Benelli G. Plant-borne ovicides in the fight against mosquito vectors of medical and veterinary importance: a systematic review. *Parasitol Res.* 2015;114(9):3201-12.
10. Zahran HE, Abdelgaleil SA. Insecticidal and developmental inhibitory properties of monoterpenes on *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae). *J Asia-Pac Entomol.* 2011;14(1):46-51.
11. Abouhosseini Tabari M, Youssefi MR, Esfandiari A, Benelli G. Toxicity of β -citronellol, geraniol and linalool from *Pelargonium roseum* essential oil against the West Nile and filariasis vector *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *Res Vet Sci.* 2017;114:36-40.
12. Youssefi MR, Abouhosseini Tabari M, Esfandiari A, Kazemi S, Moghadamnia AA, Sut S, et al. Efficacy of Two Monoterpenoids, Carvacrol and Thymol, and Their Combinations against Eggs and Larvae of the West Nile Vector *Culex pipiens*. *Molecules.* 2019;24(10):1867.
13. Lo Cantore P, Shanmugaiah V, Iacobellis NS. Antibacterial activity of essential oil components and their potential use in seed disinfection. *J Agric Food Chem.* 2009;57(20):9454-61.
14. Chen W, Viljoen AM. Geraniol - A review of a commercially important fragrance material. *S Afr J Bot.* 2010;76(4):643-51.
15. Kim S-H, Bae HC, Park E-J, Lee CR, Kim B-J, Lee S, et al. Geraniol inhibits prostate cancer growth by targeting cell cycle and apoptosis pathways. *Biochem Biophys Res Commun.* 2011;407(1):129-34.
16. Ferreira LL, de Oliveira Filho JG, Mascarin GM, de León AAP, Borges LMF. In vitro repellency of DEET and β -citronellol against the ticks *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* and *Amblyomma sculptum*. *Vet Parasitol.* 2017;239:42-5.
17. Raveen R, Kamakshi KT, Deepa M, Arivoli S, Tennyson S. Larvicidal activity of *Nerium oleander* L. (Apocynaceae) flower extracts against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Int J Mosq Res.* 2014;1(1):38-42.
18. Pastor J, García M, Steinbauer S, Setzer WN, Scull R, Gille L, et al. Combinations of ascaridole, carvacrol, and caryophyllene oxide against *Leishmania*. *Acta Trop.* 2015;145:31-8.
19. Ohrt C, Willingmyre GD, Lee P, Knirsch C, Milhous W. Assessment of azithromycin in combination with other antimalarial drugs against *Plasmodium falciparum* in vitro. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002;46(8):2518-24.
20. Cheng S-S, Liu J-Y, Tsai K-H, Chen W-J, Chang S-T. Chemical composition and mosquito larvicidal activity of essential oils from leaves of different *Cinnamomum osmophloeum* provenances. *J Agric Food Chem.* 2004;52(14):4395-400.

21. Mukandiwa L, Eloff JN, Naidoo V. Larvicidal activity of leaf extracts and seselin from *Clausena anisata* (Rutaceae) against *Aedes aegypti*. *S Afr J Bot*. 2015;100:169-73.
22. Mavundza EJ, Maharaj R, Chukwujekwu JC, Finnie JF, Van Staden J. Larvicidal activity against *Anopheles arabiensis* of 10 South African plants that are traditionally used as mosquito repellents. *S Afr J Bot*. 2013;88:86-9.
23. Traboulsi AF, Taoubi K, El-Haj S, Bessiere JM, Rammal S. Insecticidal properties of essential plant oils against the mosquito *Culex pipiens molestus* (Diptera: Culicidae). *Pest Manag Sci*. 2002;58(5):491-5.
24. Govindarajan M, Rajeswary M, Benelli G. Chemical composition, toxicity and non-target effects of *Pinus kesiya* essential oil: An eco-friendly and novel larvicide against malaria, dengue and lymphatic filariasis mosquito vectors. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2016;129:85-90.
25. Karpouhtsis I, Pardali E, Feggou E, Kokkini S, Scouras ZG, Mavragani-Tsipidou P. Insecticidal and Genotoxic Activities of Oregano Essential Oils. *J Agric Food Chem*. 1998;46(3):1111-5.