

دوماهنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۳۱، شماره ۱، صفحه ۱۱۴-۱۰۲ (۱۳۹۴)

اثر کنه کشی برخی ترکیب‌های فرموله شده بر پایه عصاره زیتون تلخ و اسانس‌های گیاهی روی کنه تارتن دولکه‌ای (*Tetranychus urticae*)

حمیدرضا صراف معیری^{۱*}، فاطمه پیرایش‌فر^۲، نرگس عزیزیان^۲ و علی‌رضا بلندنظر^۳

۱- استادیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، پست الکترونیک: hamidsarrafm@gmail.com

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

۳- کارشناس، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی باریج اسانس، کاشان، ایران

تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۲

تاریخ اصلاح نهایی: شهریور ۱۳۹۲

تاریخ دریافت: دی ۱۳۹۱

چکیده

کنه تارتن دولکه‌ای (*Tetranychus urticae* Koch) یکی از رایج‌ترین و خطرناک‌ترین آفات محصولات کشاورزی با پراکنش جهانی می‌باشد. استفاده مکرر از سموم شیمیایی، توسعه مقاومت به آفت‌کش‌ها، اثرات نامطلوب بر موجودات غیر هدف و آلودگی‌های زیست محیطی را به همراه داشته است. در سال‌های اخیر اسانس‌های گیاهی، به علت کم‌خطر بودن برای انسان و پستانداران، تجزیه سریع و خطرات به مراتب کمتر زیست‌محیطی، توجه خاصی را به‌عنوان عوامل جایگزین آفت‌کش‌های شیمیایی به خود جلب کرده‌اند. در این پژوهش سمیت تماسی ۹ ترکیب فرموله شده بر پایه اسانس‌های گیاهی شامل رزماری، پونه، نعناع فلفلی و دارچین همراه با عصاره میوه زیتون تلخ به روش غوطه‌ورسازی روی ماده بالغ کنه تارتن دولکه‌ای مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش‌ها در دمای 25 ± 1 درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی $70 \pm 5\%$ و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انجام شد. نتایج نشان داد که از میان تیمارهای مورد بررسی، ترکیب فرموله شده بر پایه عصاره میوه زیتون تلخ و اسانس‌های رزماری و نعناع فلفلی (زیتون تلخ $5\% +$ نعناع فلفلی $2\% +$ رزماری 2%)، به‌طور معنی‌داری بیشترین میزان کشندگی و کمترین مقدار LC_{50} و LC_{90} (به ترتیب $3/399$ و $10/102$ میلی‌لیتر بر لیتر) را ۲۴ ساعت پس از تیمار روی مرحله بالغ کنه تارتن دولکه‌ای داشته است و توانمندی قابل‌توجهی را در مدیریت این آفت داراست.

واژه‌های کلیدی: اسانس‌های گیاهی، زیست‌سنجی، کشندگی، LC_{50} .

مقدمه

تئیدن شبکه تارهای ابریشمی، بدشکلی و نکروزه شدن برگ‌ها و ساقه‌ها می‌باشد. همچنین کاهش سطح فتوسنتز و اختلال در تبادلات روزنه‌ای نیز از اثرات غیرمستقیم خسارت این آفت محسوب می‌گردد که در نهایت ممکن است مرگ گیاه میزبان را به همراه داشته باشد (Janssen *et al.*, 1997). کنترل جمعیت کنه تارتن به‌صورت مرسوم

کنه تارتن دولکه‌ای (*Tetranychus urticae* Koch) یکی از مهمترین آفات محصولات کشاورزی و به‌ویژه گلخانه‌ای در جهان محسوب می‌گردد (Miresmailli *et al.*, 2006). علائم خسارت این آفت ظهور نقاط سفید مایل به زرد در سطح رویی برگ (به‌واسطه تخلیه شدن کلروفیل)،

وابسته به کاربرد مکرر آفتکش‌های شیمیایی سنتتیک می‌باشد که کاربرد بیش از حد این ترکیب‌ها در چندین دهه گذشته سبب اختلال در سیستم کنترل طبیعی، آلودگی محصولات کشاورزی، ایجاد مقاومت در آفات هدف و اثرات زیان‌بار بر موجودات غیرهدف مفید شده است (Isman, 2000). تاکنون مقاومت کنه تارتن دولکه‌ای به ۹۳ کنه‌کش از ۱۰۵ کشور جهان گزارش شده است (Whalon et al., 2012). استفاده از ترکیب‌های طبیعی که ضمن سازگاری با محیط زیست، دارای خصوصیات آفت‌کشی مطلوب نیز باشند، رو به گسترش است. بنابراین امروزه حجم وسیعی از مطالعات و بررسی‌ها روی آفت‌کش‌های زیست‌بنیاد (Biorational pesticides) متمرکز گردیده است (Isman et al., 2011). اسانس‌های گیاهی دارای مزایایی از قبیل کم‌خطر بودن برای انسان و سایر یست‌اندازان، پایداری کم در محیط زیست و مقاومت دیر هنگام آفات به‌واسطه ترکیب‌های پیچیده هستند و به نظر می‌رسد می‌توانند جایگزین مناسبی برای سموم شیمیایی در کنترل آفات باشند (Guleria & Tika, 2009; Isman, 2000). متابولیت‌های ثانویه گیاهی دارای اثرهای فیزیولوژیکی و رفتاری متفاوتی روی حشرات و کنه‌های آفت می‌باشند. این تأثیرها می‌تواند شامل اثر کشندگی، دورکنندگی، جلب‌کنندگی و ضدتغذیه‌ای برای جانوران آفت باشند (Isman, 2000). معرفی آفت‌کش‌هایی بر پایه اسانس‌های گیاهی از سال ۱۹۹۸ در کشورهای توسعه یافته مانند آمریکا آغاز شده‌است و تاکنون فراورده‌هایی بر پایه اسانس‌های میخک، رزماری، نعناع فلفلی، دارچین، لیمو و آویشن به‌منظور مدیریت آفات بهداشتی، زراعی و گلخانه‌ای ساخته شده و به‌صورت تجاری وارد بازار مصرف شده است (Isman et al., 2011). برخی از شرکت‌های ایالات متحده نیز آفت‌کش‌هایی بر پایه اسانس دارچین در سال‌های اخیر تولید کردند که با خاصیت شته‌کشی، کنه‌کشی و قارچ‌کشی در گلخانه‌ها و باغ‌ها به‌صورت امولسیون مصرف می‌شوند (Koul et al., 2008). تاکنون توانمندی بالای اسانس‌های گیاهی (Tunc & Calmasur et al., 2004; Sahinkaya, 1998; Aslan et al., 2004)

و فرمولاسیون‌هایی بر پایه اسانس رزماری (Miresmailli & Isman, 2006) و عصاره بذر چریش (Makundi & Kashenge, 2002); مورد بررسی قرار گرفته‌است. در ایران تاکنون در زمینه بررسی اثرات کنه‌کشی ترکیب‌های فرموله شده بر پایه عصاره زیتون تلخ و اسانس‌های گیاهی روی کنه تارتن دولکه‌ای مطالعه‌ای انجام نشده است. هدف از این پژوهش ارزیابی و مقایسه چند ترکیب فرموله شده به‌صورت امولسیون بر پایه اسانس گیاهان نعناع فلفلی، رزماری، پونه و دارچین به‌منظور کنترل خسارت کنه *T. urticae* و کاهش مصرف سموم شیمیایی می‌باشد.

مواد و روشها

پرورش کلنی

کنه تارتن دولکه‌ای روی گیاه لویبلی چشم‌بلیلی (*Vigna sinensis* (L.) walp.) رقم طارم پرورش داده شد. پرورش این آفت در داخل محفظه‌های شیشه‌ای به ابعاد (۱۰۰ × ۷۰ × ۷۵ سانتی‌متر) در آزمایشگاه اکولوژی و کنترل بیولوژیک پژوهشکده فیزیولوژی و بیوتکنولوژی دانشگاه زنجان انجام گردید.

فرمولاسیون‌های گیاهی

ترکیب‌های فرموله شده به‌صورت امولسیون ساخته شد که شامل اسانس‌های گیاهی، عصاره میوه زیتون تلخ، امولسی فایر، حلال، مواد پخش‌کننده و چسباننده بود. اسانس‌های مورد نظر از اندام‌های هوایی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.)، رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.)، پونه (*Mentha pulegium* L.) و پوست تنه دارچین (*Cinnamomum zelanicum* L.) استحصال شد. اسانس‌ها به روش تقطیر با آب و به کمک دستگاه کلونجر تهیه شد.

به‌منظور عصاره‌گیری از میوه‌های رسیده گیاه زیتون تلخ (*Melia azedirach* L.) ابتدا میوه‌ها به کمک آسیاب برقی

۹۰٪ ایجاد نماید. آزمون نهایی بر پایه غلظت‌های بدست آمده از آزمون‌های اولیه با ۴ تکرار انجام شد.

جدول ۱- اجزای سازنده ترکیب‌های فرموله شده به صورت

امولسیون بر پایه عصاره زیتون تلخ و برخی اسانس‌های گیاهی

کد ترکیب	اجزای ترکیب‌های فرموله شده
A	زیتون تلخ ۵٪
B	زیتون تلخ ۵٪ + رزماری ۲٪
C	زیتون تلخ ۵٪ + پونه ۲٪
D	زیتون تلخ ۵٪ + نعناع فلفلی ۲٪
E	زیتون تلخ ۵٪ + دارچین ۲٪
F	زیتون تلخ ۵٪ + نعناع فلفلی ۲٪ + رزماری ۲٪
G	زیتون تلخ ۵٪ + نعناع فلفلی ۲٪ + پونه ۲٪
H	زیتون تلخ ۵٪ + نعناع فلفلی ۲٪ + رزماری ۲٪ + دارچین ۲٪
I	زیتون تلخ ۵٪ + نعناع فلفلی ۲٪ + پونه ۲٪ + دارچین ۲٪

در آزمایش‌های زیست‌سنجی واحدهای آزمایشی شامل تشتک‌های پلاستیکی به قطر ۹ سانتی‌متر و حجم ۹۰ میلی‌لیتر بودند که کف آنها با کاغذ صافی مرطوب پوشانده شده بود. برگ‌های کامل لوبیا (با میانگین قطر ۲ سانتی‌متر) روی کاغذهای صافی قرار داده شدند و متعاقب آن تعداد ۱۵ کنه بالغ ماده روی هر یک از برگ‌ها رها شد. به‌منظور استقرار کنه‌ها روی دیسک‌های برگ‌گی یک ساعت زمان در نظر گرفته شد. سپس دیسک‌های برگ‌گی به مدت ۵ ثانیه (Roh *et al.*, 2011) در تمامی تیمارهای مورد نظر غوطه‌ور شدند. به‌منظور رقیق نمودن فرمولاسیون‌های گیاهی و نیز در نمونه‌های شاهد تنها از آب مقطر استفاده گردید. واحدهای آزمایشی پس از طی مراحل ذکر شده به اتاقک رشد با دمای 25 ± 1 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 70 ± 5 ٪ و دوره نوری ۸ ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی منتقل گردید. پس از گذشت ۲۴ و ۴۸ ساعت از شروع آزمایش، تعداد کنه‌های مرده شمارش گردید. در صورتی که کنه‌ها در اثر

به‌صورت پودر درآمد. سپس ۱۵۰ گرم از میوه پودر شده داخل دستگاه سوکسله ریخته شده و با ۳۰۰ میلی‌لیتر از حلال پترولیوم اتر (اتر نفت) آغشته گردید و پس از گذشت ۳ ساعت، عصاره روغنی زیتون تلخ استخراج شد. متعاقباً حلال توسط دستگاه تقطیر در خلأ از عصاره روغنی جدا شد و از این عصاره به جای مانده به همراه اسانس‌های مختلف گیاهی در ساختن ترکیب‌های فرموله شده استفاده گردید. تمامی مراحل ساخت ترکیب‌های فرموله‌شده که به‌عنوان تیمار در این پژوهش مورد آزمون قرار گرفت، در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی شرکت داروسازی باریج اسانس کاشان انجام شد. سمیت تنفسی قابل‌توجه اسانس‌های نعناع فلفلی، رزماری، پونه (پیرایش فر و همکاران، ۱۳۹۰ الف و ب) و همچنین اثر کشندگی مطلوب عصاره زیتون تلخ (اشرف‌جو و احمدی، ۱۳۹۰؛ El-Sawi, Kim *et al.*, 2009؛ 2008) که پیش از این نیز روی کنه تارتن دولکه‌ای مورد بررسی قرار گرفته بود، مبنای انتخاب ترکیب‌های سازنده فرمولاسیون‌های گیاهی بود. درصد ترکیب‌های سازنده نیز با پیش‌آزمون‌های قبلی و نیز با در نظر گرفتن عوامل محدودکننده‌ای مانند کیفیت ماده فرموله‌شده و قیمت اسانس‌ها انتخاب شد. به‌منظور اطمینان از اینکه کشندگی ترکیب‌های فرموله‌شده، مربوط به سمیت اسانس‌های گیاهی و عصاره زیتون تلخ می‌باشد، درصد کشندگی ماده حامل نیز به تنهایی و در پنج تکرار بررسی شد. ترکیب‌های فرموله‌شده و اجزای آنها در جدول ۱ نشان داده شده‌است.

آزمایش‌های زیست‌سنجی

آزمایش‌های زیست‌سنجی به روش غوطه‌ورسازی برگ‌های حاوی مرحله بالغ کنه *T. urticae* (Leaf-dipping method) انجام شد. غلظت‌های کشنده ۵۰٪ (LC₅₀) برای تمامی ترکیب‌های فرموله‌شده طی دو مرحله آزمون اولیه (Bracketing tests) و نهایی تعیین گردید. هدف از آزمون‌های اولیه بدست آوردن غلظت‌هایی از اسانس‌های مذکور بود که بتواند تلفاتی را در بازه ۲۰٪ تا

تحریک با یک قلم‌موی ظریف قادر به حرکت دادن پاها و ضمایم بدن نبودند، مرده محسوب می‌شدند (Miresmailli *et al.*, 2006).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

محاسبه غلظت کشندگی ۵۰٪ (LC₅₀)، غلظت کشندگی ۹۰٪ (LC₉₀) و آماره‌های مربوط به آن برای هر ترکیب فرموله شده به‌طور جداگانه و به کمک نرم‌افزار POLO-PC (LeOra Software, 1987) انجام شد. معنی‌دار بودن یا نبودن اختلاف در میزان سمیت فرمولاسیون‌های گیاهی با استفاده از روش نسبت دوز کشنده (Lethal dose ratio) مقایسه گردید (Robertson *et al.*, 2007). در این روش چنانچه حدود بالا و پایین نسبت کشندگی شامل عدد یک نباشد، اختلاف دو تیمار با یکدیگر معنی‌دار تلقی می‌گردد. به‌منظور رسم نمودار دوز-پاسخ (Probit) نیز از نرم‌افزار Sigma Plot 10 استفاده شد.

نتایج

نتایج نشان می‌دهد که تمامی ترکیب‌های فرموله شده دارای سمیت تماسی زیادی روی مرحله بالغ کنه *T. urticae* می‌باشند. در بین ۹ تیمار مورد آزمایش، ترکیب فرموله شده F (زیتون تلخ ۵٪ + نعناع فلفلی ۲٪ + رزماری ۲٪)، دارای بیشترین میزان کشندگی و کمترین مقدار LC₅₀ و LC₉₀ ۲۴ ساعت پس از تیمار بود (به‌ترتیب ۳/۳۹۹ و ۱۰/۱۰۲ میلی‌لیتر بر لیتر) (جدول ۲). همچنین این ترکیب فرموله شده (F)، کمترین میزان LC₉₀ ۸/۶۲۴ میلی‌لیتر بر لیتر را ۴۸ ساعت پس از تیمار داشت (جدول ۳). کمترین میزان کشندگی و بیشترین مقدار LC₅₀، به استثنای زیتون تلخ ۵٪ (A)، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از تیمار به فرمولاسیون H (زیتون تلخ ۵٪ + نعناع فلفلی ۲٪ + رزماری ۲٪ و دارچین ۲٪) اختصاص داشت (به‌ترتیب برابر با ۱۰/۴۸۳ و ۹/۳۴۶ میلی‌لیتر بر لیتر) (جدول‌های ۲ و ۳). میزان تلفات در نمونه‌های شاهد کمتر از ۵٪ بود. همچنین درصد کشندگی

ماده حامل فرمولاسیون (بدون حضور اسانس‌ها و عصاره)، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از تیمار به‌ترتیب ۳٪ و ۵٪ بود. حدود بالا و پایین نسبت کشندگی نشان می‌دهد که فرمولاسیون F (با داشتن کمترین مقدار LC₅₀ و LC₉₀) دارای اختلاف معنی‌داری از نظر میزان کشندگی با سایر فرمولاسیون‌های مورد بررسی، بجز فرمولاسیون G می‌باشد (جدول ۴). در مورد مقایسه دو فرمولاسیون F و G می‌توان چنین بیان نمود که اگرچه از نظر میزان LC₅₀ (۲۴ ساعت پس از تیمار) اختلاف معنی‌داری در میزان کشندگی بین این دو فرمولاسیون (F و G) وجود ندارد، اما به لحاظ مقدار LC₉₀، بین دو فرمولاسیون F و G، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از تیمار، تفاوت قابل‌ملاحظه‌ای دیده می‌شود و فرمولاسیون F کشندگی بیشتری را نشان می‌دهد (جدول‌های ۲ و ۳). مزیت دیگری که فرمولاسیون F را نسبت به G برتری می‌دهد، بزرگتر بودن میزان شیب آن است. بالاتر بودن میزان شیب در تیمار F (۲/۷۰۹±۰/۴۸۸) نسبت به G (۲/۰۳۸±۰/۳۷۳) بیانگر این است که در مقدار مساوی افزایش دوز برای هر دو فرمولاسیون، ترکیب F افزایش بیشتری را در میزان تلفات خواهد داشت که به لحاظ کاربردی و دوز توصیه شده حائز اهمیت است (جدول ۲). بررسی نسبت دوز کشندگی سایر تیمارهای مورد مطالعه و مقایسه آنها در جدول ۴ نشان داده شده‌است. در تمامی تیمارها با افزایش غلظت فرمولاسیون‌ها، میزان تلفات افزایش یافت، به‌طوری که در بالاترین غلظت، بیشترین میزان تلفات را شاهد بودیم. همچنین با گذشت زمان (از ۲۴ به ۴۸ ساعت) نیز افزایش میزان تلفات در تمامی تیمارها وجود داشت (شکل ۱ و جدول‌های ۲ و ۳). قابل ذکر است که به‌منظور بررسی اثر گیاه‌سوزی احتمالی ترکیب‌های مورد آزمون در این پژوهش، گیاهان ۸ برگی لوبیا چشم‌بلبلی در معرض غلظت ۱۰ برابر LC₉₀ هر ترکیب تیمار (با استفاده از سم‌پاش دستی) قرار گرفت که هیچ‌گونه اثر گیاه‌سوزی پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت مشاهده نگردید.

جدول ۲- سمیت تماسی ترکیب‌های فرموله شده بر پایه عصاره زیتون تلخ و اسانس‌های گیاهی روی ماده بالغ کنه تارتن دولکه‌ای (*T. urticae*)، پس از گذشت ۲۴ ساعت

مربع کای	شیب \pm خطای استاندارد	سطح اطمینان ۹۵٪		LC90 (ml/l)	سطح اطمینان ۹۵٪		LC50 (ml/l)	تعداد کنه	فرمولاسیون‌های گیاهی
		(ml/l)			(ml/l)				
		lower	upper		lower	upper			
۱/۹۷۶ *	۲/۵۰۳ \pm ۰/۵۷۵	۵۹/۱۵	۱۸۱/۷۶	۸۱/۹۰۶	۱۸/۴۹۹	۳۰/۲۳۶	۲۵/۲۰۰	۳۳۴	زیتون تلخ ۵٪
۴/۰۴۰ *	۲/۲۱۸ \pm ۰/۳۶۱	۱۶/۰۲۶	۷۶/۸۲۰	۲۵/۴۱۱	۴/۷۰۹	۹/۱۶۱	۶/۷۱۶	۳۳۷	زیتون تلخ ۵٪ + رزماری ۲٪
۱/۹۹۳ *	۱/۴۱۴ \pm ۰/۳۵۲	۲۸/۸۱	۴۱۱/۷۶	۵۸/۴۵۰	۴/۷۶۶	۱۰/۳۳۳	۷/۲۴۶	۲۶۸	زیتون تلخ ۵٪ + پونه ۲٪
۴/۴۱۷ *	۱/۳۰۰ \pm ۰/۲۳۷	۲۸/۵۶	۱۱۳۴/۸۸	۷۲/۲۶۹	۳/۹۲۳	۱۴/۸۱۶	۷/۴۷۲	۳۰۲	زیتون تلخ ۵٪ + نعناع فلفلی ۲٪
۴/۹۲۴ *	۱/۴۳۸ \pm ۰/۲۳۹	۳۲/۶۰۲	۱۲۷/۵۴۴	۵۲/۹۶۸	۴/۵۶۲	۹/۲۱۴	۶/۸۰۲	۳۱۹	زیتون تلخ ۵٪ + دارچین ۲٪
۷/۱۶۲ *	۲/۷۰۹ \pm ۰/۴۸۸	۶/۶۳۲	۵۳/۶۹۱	۱۰/۱۰۲	۱/۶۷۱	۴/۷۱۰	۳/۳۹۹	۳۵۹	زیتون تلخ ۵٪ + نعناع فلفلی ۲٪ + رزماری ۲٪
۷/۲۲۶ *	۲/۰۳۸ \pm ۰/۳۷۳	۱۰/۹۷۷	۱۴۹/۹۶	۱۸/۳۴۰	۱/۰۶۸	۶/۷۱۱	۴/۳۰۹	۲۷۳	زیتون تلخ ۵٪ + نعناع فلفلی ۲٪ + پونه ۲٪
۳/۴۲۱ *	۳/۰۰۴ \pm ۰/۷۱۳	۱۹/۵۶۸	۹۳/۲۱۸	۲۸/۰۰۰	۶/۳۲۶	۱۳/۶۶۸	۱۰/۴۸۳	۲۳۸	زیتون تلخ ۵٪ + نعناع فلفلی ۲٪ + رزماری ۲٪ + دارچین ۲٪
۲/۴۱۹ *	۱/۳۶۴ \pm ۰/۲۴۴	۴۱/۵۸۲	۲۲۲/۴۶	۷۳/۹۵۰	۵/۵۳۶	۱۲/۰۷۹	۸/۵۰۵	۲۹۳	زیتون تلخ ۵٪ + نعناع فلفلی ۲٪ + پونه ۲٪ + دارچین ۲٪

*: معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۵٪ ($p < 0.05$)

جدول ۳- سمیت تماسی ترکیب‌های فرموله شده بر پایه عصاره زیتون تلخ و اسانس‌های گیاهی روی ماده بالغ کنه تارتن دولکهای (*T. urticae*)، پس از گذشت ۴۸ ساعت

مربع کای	شیب \pm خطای استاندارد	سطح اطمینان ۹۵٪		LC90 (ml/l)	سطح اطمینان ۹۵٪		LC50 (ml/l)	تعداد کنه	فرمولاسیون‌های گیاهی
		(ml/l)			(ml/l)				
		lower	upper		lower	upper			
۶/۸۰۷ *	۲/۰۰ + ۰/۴۰۷	۴۹/۶۰	۳۲۸/۸۲	۷۸/۸۶۶	۸/۳۶۲	۲۵/۴۴۲	۱۸/۰۳۷	۳۰۳	زیتون تلخ ۵٪
۱/۰۲۷ *	۲/۹۱۰ + ۰/۳۳۵	۱۲/۴۳۲	۳۴/۸۱۰	۱۷/۷۶۷	۲/۷۳۶	۴/۷۵۰	۳/۷۹۰	۳۰۸	زیتون تلخ ۵٪ + رزماری ۲٪
۲/۶۰۹ *	۱/۲۸۶ + ۰/۳۵۳	۲۸/۸۱	۲۶۶/۱	۳۳/۳۹۸	۱/۴۷۲	۴/۸۸۲	۳/۳۶۹	۲۳۹	زیتون تلخ ۵٪ + پونه ۲٪
۱/۹۶۵ *	۰/۸۴۶ + ۰/۱۸۹	۲۳/۷۸۲	۴۷۵/۶۶	۵۷/۵۶۰	۰/۷۰۵	۲/۸۹۸	۱/۷۶۲	۳۲۴	زیتون تلخ ۵٪ + نعناع فلفلی ۲٪
۱/۴۵۲ *	۱/۲۸۴ + ۰/۳۴۹	۱۳/۶۵۰	۱۲۲/۷۳۲	۲۳/۶۹۴	۰/۷۵۳	۳/۶۳۷	۲/۳۸۲	۲۷۶	زیتون تلخ ۵٪ + دارچین ۲٪
۲/۹۵۸ *	۲/۲۳۳ + ۰/۳۷۲	۶/۶۱۸	۱۳/۳۸۱	۸/۶۲۴	۱/۵۶۲	۲/۹۳۸	۲/۳۰۰	۴۵۲	زیتون تلخ ۵٪ + نعناع فلفلی ۲٪ + رزماری ۲٪
۱/۴۰۷ *	۱/۵۲۳ + ۰/۳۲۶	۱۰/۷۰۷	۱۰۸/۸۰۴	۱۷/۸۳۵	۰/۴۸۷	۴/۱۷۵	۲/۵۷۰	۳۱۳	زیتون تلخ ۵٪ + نعناع فلفلی ۲٪ + پونه ۲٪
۴/۱۷۲ *	۳/۴۹۶ + ۰/۷۴۲	۱۶/۰۸۰	۵۲/۷۰۷	۲۱/۷۳۸	۵/۲۴۱	۱۲/۱۷۶	۹/۳۴۶	۲۳۸	زیتون تلخ ۵٪ + نعناع فلفلی ۲٪ + رزماری ۲٪ + دارچین ۲٪
۱/۲۹۳ *	۲۱/۲۱۷ + ۰/۲۸۶	۹/۹۳۷	۱۷/۷۲۰	۱۲/۶۸۳	۲/۳۹۶	۴/۲۷۷	۳/۳۵۰	۲۹۵	زیتون تلخ ۵٪ + نعناع فلفلی ۲٪ + پونه ۲٪ + دارچین ۲٪

*: معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۵٪ ($p < 0.05$)

جدول ۴- نسبت سمیت کشندگی ترکیب‌های فرموله شده بر پایه عصاره زیتون تلخ و اسانس‌های گیاهی

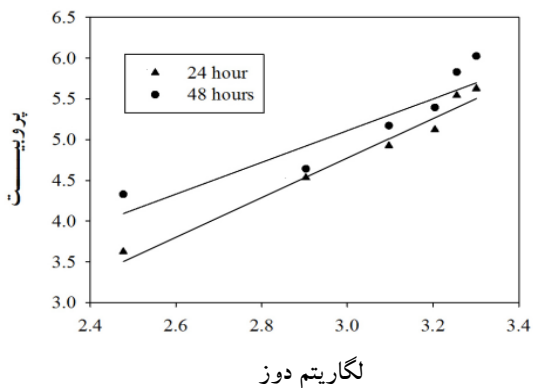
روی ماده بالغ کنه تارتن دولکهای (*T. urticae*)

B	C	D	E	F	G	H	I	
							ratio=0.811 lower=0.523 upper=1.258*	H
						ratio=0.411 lower=0.279 upper=0.605	ratio=0.507 lower=0.313 upper=0.820	G
					ratio=1.268 lower=0.878 upper=1.830*	ratio=3.084 lower=2.267 upper=4.196	ratio=2.502 lower=1.642 upper=3.814	F
				ratio=2.001 lower=1.354 upper=2.958	ratio=1.578 lower=1.001 upper=2.489	ratio=0.649 lower=0.431 upper=0.977	ratio=0.800 lower=0.485 upper=1.319*	E
			ratio=0.910 lower=0.546 upper=1.518*	ratio=0.455 lower=0.295 upper=0.702	ratio=0.577 lower=0.352 upper=0.944	ratio=1.403 lower=0.894 upper=2.203*	ratio=1.138 lower=0.666 upper=1.944*	D
		ratio=0.970 lower=0.579 upper=1.625*	ratio=1.065 lower=0.659 upper=1.722*	ratio=2.132 lower=1.433 upper=3.172	ratio=1.681 lower=1.060 upper=2.666	ratio=0.6912 lower=0.456 upper=1.047	ratio=0.852 lower=0.514 upper=1.412*	C
	ratio=1.079 lower=0.721 upper=1.615*	ratio=1.112 lower=0.716 upper=1.728*	ratio=1.013 lower=0.681 upper=1.507*	ratio=0.506 lower=0.378 upper=0.677	ratio=0.642 lower=0.442 upper=0.932	ratio=1.562 lower=1.139 upper=2.141	ratio=1.266 lower=0.826 upper=1.941*	B
ratio=0.266 lower=0.197 upper=0.361	ratio=0.287 lower=0.192 upper=0.431	ratio=0.296 lower=0.190 upper=0.461	ratio=0.270 lower=0.181 upper=0.402	ratio=0.135 lower=0.004 upper=0.181	ratio=0.171 lower=0.117 upper=0.249	ratio=0.416 lower=0.302 upper=0.572	ratio=0.337 lower=0.220 upper=0.518	A

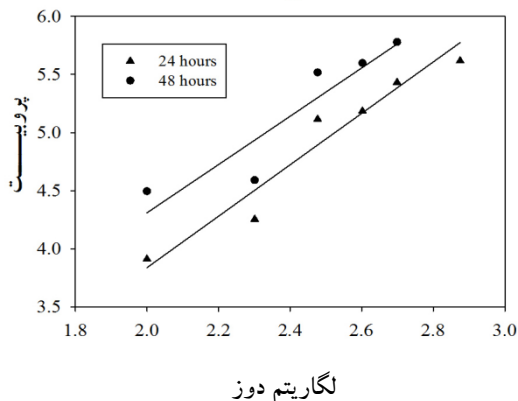
* اگر حدود بالا و پایین شامل عدد یک باشد، بین مقادیر LC50 اختلاف معنی‌داری وجود ندارد.

Ratio: نسبت کشندگی، lower (lower limit): حد پایین، upper (upper limit): حد بالا

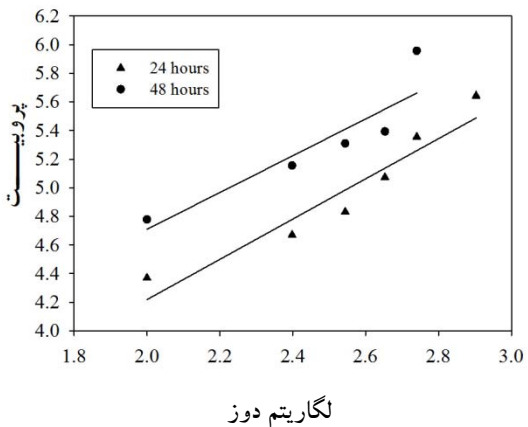
زیتون تلخ ۵٪



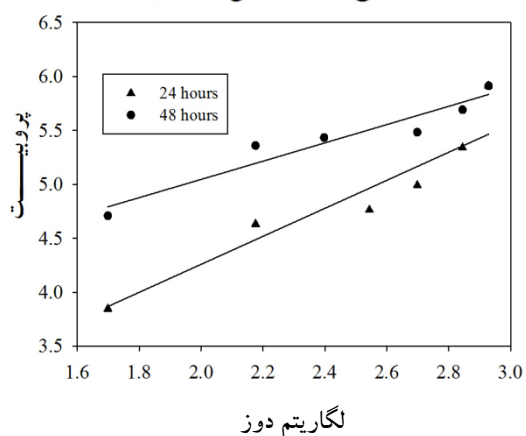
زیتون تلخ ۵٪ + رزماری ۲٪



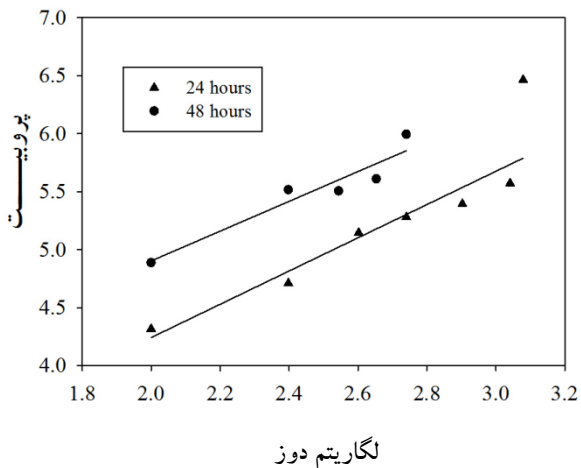
زیتون تلخ ۵٪ + پونه ۲٪



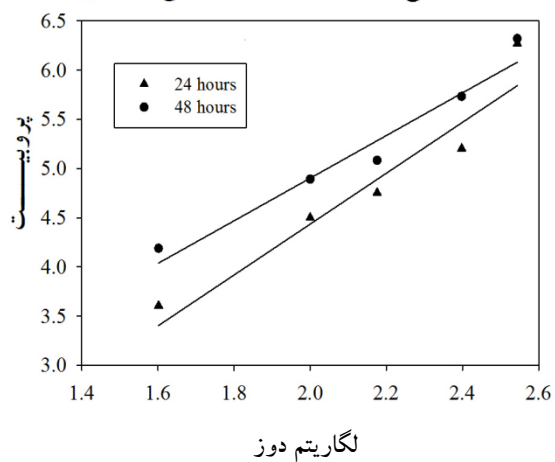
زیتون تلخ ۵٪ + نعناع فلفلی ۲٪

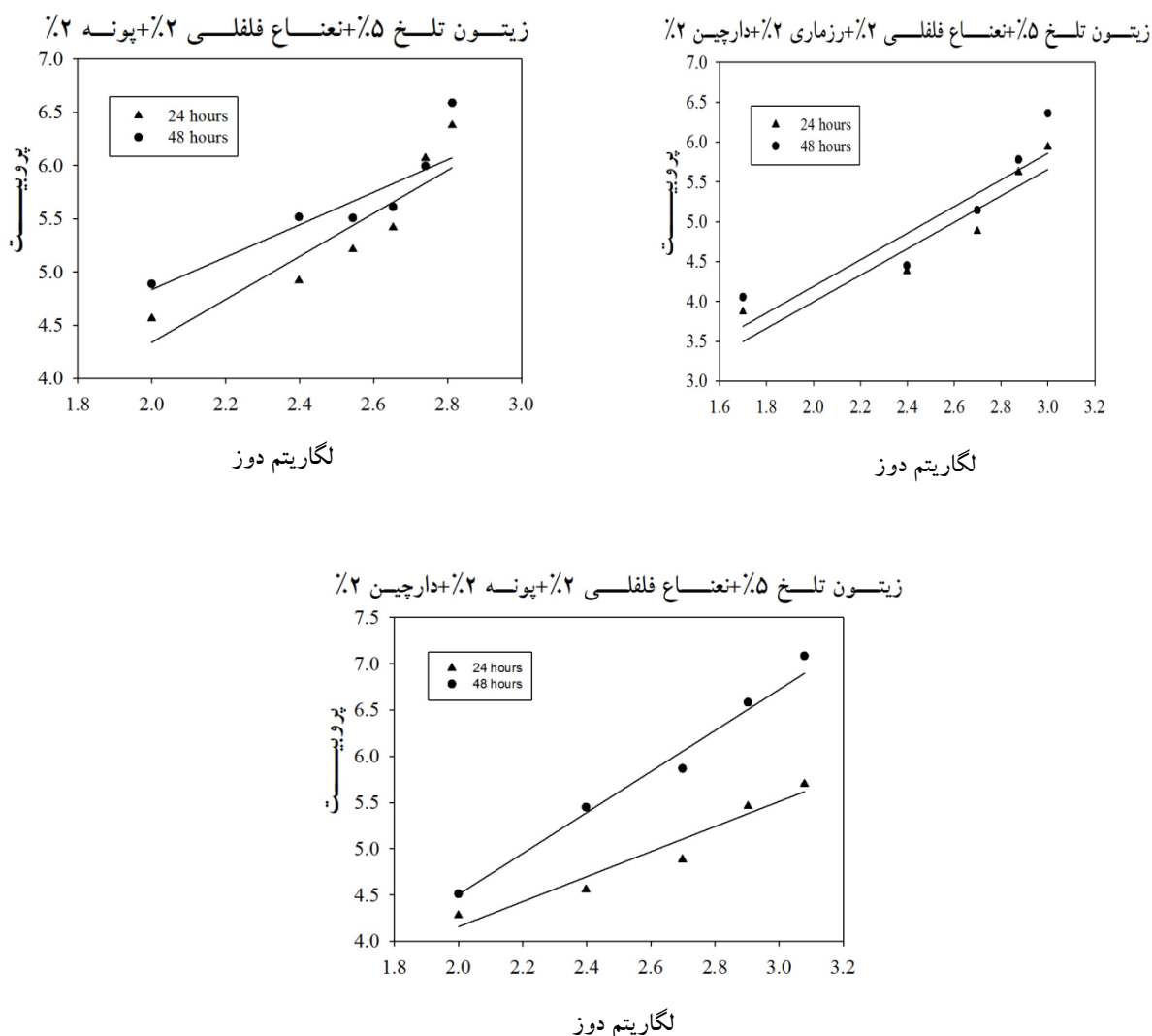


زیتون تلخ ۵٪ + دارچین ۲٪



زیتون تلخ ۵٪ + رزماری ۲٪ + نعناع فلفلی ۲٪





شکل ۱- نمودار دوز-پاسخ (Probit) اثر کشندگی تماسی ترکیب‌های فرموله شده بر پایه عصاره زیتون تلخ و اسانس‌های گیاهی پس از گذشت ۲۴ و ۴۸ ساعت روی کنه‌های تارتن بالغ (*T. urticae*)

بحث

نتایج نشان داد که ترکیب فرموله شده F (زیتون تلخ ۵٪ + نعنای فلفلی ۲٪ + رزماری ۲٪) بیشترین و ترکیب فرموله شده H (زیتون تلخ ۵٪ + نعنای فلفلی ۲٪ + رزماری ۲٪ + دارچین ۲٪) کمترین توانمندی کشندگی را روی مراحل بالغ کنه تارتن دولکه‌ای داشته است (جدول ۲). در تمامی تیمارها با افزایش غلظت، میزان کشندگی فرمولاسیون‌ها نیز افزایش یافت که این روند در آزمایش‌های سایر محققان نیز مشاهده می‌گردد (Aslan et al., 2004; Choi et al., 2004). همچنین با افزایش زمان در معرض بودن فرمولاسیون‌ها با جانوران مورد مطالعه، افزایش در میزان تلفات را شاهد بودیم، به طوری که در تمامی تیمارها مقدار LC_{50} پس از ۴۸ ساعت کمتر از میزان متناظر آن پس از ۲۴ ساعت بوده است که موافق با نتایج پژوهش‌های سایر محققان است (Kim et al., 2008; Aslan et al., 2004).

خاصیت کشندگی مطلوب اسانس‌های رزماری (Miresmailli & Isman, 2006)، نعنای فلفلی و پونه

مشاهده می‌گردد (Aslan et al., 2004; Choi et al., 2004). همچنین با افزایش زمان در معرض بودن فرمولاسیون‌ها با جانوران مورد مطالعه، افزایش در میزان تلفات را شاهد بودیم، به طوری که در تمامی تیمارها مقدار LC_{50} پس از ۴۸ ساعت کمتر از میزان متناظر آن پس از ۲۴ ساعت بوده است که موافق با نتایج پژوهش‌های سایر محققان است (Kim et al., 2008; Aslan et al., 2004).

از این موارد است (Moretti et al., 2002). علاوه بر این فرمولاسیون تجاری بر پایه عصاره بذر چریش (Neem/Azal-T/S[®]) ساخته شده است که در دو غلظت ۰/۳٪ و ۰/۵٪ روی جانوران ماده بالغ کنه تارتن دولکه‌ای میزان کشندگی بالایی را داشته است. این آفت‌کش گیاهی دارای اثر کشندگی، بازدارندگی تخم‌ریزی و بازدارندگی رشد روی کنه تارتن دولکه‌ای می‌باشد. کاهش شدید تولید تخم، عقیمی ماده‌ها و کاهش شدید طول عمر افراد بالغ نیز توسط این آفت‌کش گیاهی نشان داده شده است (Duchovskiene et al., 2008). سمیت تماسی اسانس رزماری و یک ترکیب فرموله شده تجاری بر پایه این اسانس (EcoTrol[®]) نیز روی کنه تارتن دولکه‌ای و شکارگر (*P. persimilis*) مورد بررسی قرار گرفته است (Miresmailli & Isman, 2006). نتایج پژوهش مذکور نشان داده است که این اسانس و ترکیب فرموله شده با وجود خاصیت کشندگی مطلوب برای کنه تارتن در گیاه میزبان، سمیتی برای کنه شکارگر آن چه در محیط آزمایشگاه و چه در شرایط گلخانه نداشته است.

با وجود توانمندی بالای اسانس‌های گیاهی در کنترل آفات، مشکلاتی مانند فرار بودن اسانس‌های گیاهی، حلالیت کم در آب و ظرفیت اکسیداسیونی بالای آنها سبب شده است که استفاده کاربردی از آنها با محدودیت‌هایی همراه باشد (Moretti et al., 2002). بنابراین به نظر می‌رسد که دستیابی به دانش فنی مطلوب در جهت بهبود و توسعه فرموله کردن اسانس‌های گیاهی می‌تواند این محدودیت‌ها را تا حد زیادی مرتفع نماید تا با توجه به فلور گیاهی غنی کشورمان بتوان در جهت کاربردی‌تر کردن این آفت‌کش‌های سبز برای مدیریت آفات گام مؤثری برداشت.

در پژوهش حاضر اسانس‌های گیاهی همراه با روغن زیتون تلخ به صورت امولسیون برای نخستین بار در ایران فرموله شده و توانمندی کشندگی آن علیه کنه تارتن دولکه‌ای گزارش می‌شود. شایان ذکر است که عمده پژوهش‌هایی که در خصوص اثرات کشندگی اسانس‌های گیاهی روی کنه تارتن دولکه‌ای انجام شده بدون اثر تماسی

(Choi et al., 2004) که در ترکیب فرمولاسیون‌های مورد مطالعه بکار رفته‌اند، پیش از این نیز روی کنه تارتن دولکه‌ای گزارش شده است. همچنین اثر کنه‌کشی مطلوب اسانس دارچین روی کنه *Dermatophagoides pteronussinus* (Trouessart)؛ Kim et al., 2008) و کنه *Luciaphorus perniciosus* Rack (Veeraphant et al., 2011) نیز به اثبات رسیده است، ولی پژوهشی در این زمینه روی کنه *T. urticae* انجام نشده است. همچنین فعالیت‌های ضد تغذیه‌ای عصاره زیتون تلخ (*M. azedirach*) که در ترکیب تمامی تیمارهای مورد بررسی وجود دارد، روی سفیدبالک گلخانه (*Bemisia tabaci* (Gennadius)) (Nardo et al., 1997) و عصاره میوه آن روی دو آفت *Spodoptera eridania* (Stoll) و *Epilachna paenulata* Germ. (Carpinella et al., 2002) گزارش شده است. علاوه بر این خاصیت کنه‌کشی مطلوب عصاره برگ زیتون تلخ روی مراحل تخم و بالغ کنه تارتن دولکه‌ای توسط El-Sawi (۲۰۰۸) مورد بررسی قرار گرفته است. در این مطالعه کوتاه شدن دوره تخم‌ریزی و طول عمر بالغین و نیز کاهش تعداد کل تخم‌های گذاشته شده توسط این عصاره گیاهی به اثبات رسیده است. همچنین در پژوهشی دیگر توانمندی بالای عصاره زیتون تلخ در کاهش سریع تراکم جمعیت کنه تارتن دولکه‌ای و نیز کاربرد آن در مدیریت تلفیقی این آفت گزارش شده است (Kim et al., 2009). نتایج مطالعه آخر نشان می‌دهد که کاربرد همزمان عصاره زیتون تلخ و کنه شکارگر (*Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot) قادر است تا ۸ روز پس از تیمار، از ظهور جمعیت کنه *T. urticae* به طور کامل جلوگیری کند. در ایران نیز اشرف‌جو و همکاران (۱۳۹۰) خاصیت کشندگی مطلوب عصاره زیتون تلخ را روی ماده‌های بالغ کنه تارتن دولکه‌ای نشان داده‌اند.

تاکنون فرمولاسیون‌های متعددی بر پایه اسانس‌های گیاهی ساخته شده و روی آفات مختلف مورد بررسی قرار گرفته است. خاصیت کشندگی مطلوب فرمولاسیونی بر پایه اسانس رزماری روی لارو *Lymantria dispar* L. نمونه‌ای

- plant essential oils against *Tetranychus urticae* Koch. *Acarines*, 5(1): 11-17.
- Aslan, I., Ozbek, H., Calmasur, O. and Sahin, F., 2004. Toxicity of essential oil vapours to two greenhouse pests, *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. *Industrial Crops and Products*, 19(2): 167-173.
- Calmasur, O., Aslan, I. and Sahin, F., 2006. Insecticidal and acaricidal effect of three Lamiaceae plant essential oils against *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. *Industrial Crops and Products*, 23(2): 140-146.
- Carpinella, C., Ferrayoli, C., Valladares, G., Defago, M. and Palacios, S., 2002. Potent limonoid insect antifeedant from *Melia azedarach*. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 66(8): 1731-173.
- Choi, W.I., Lee, S.G., Park, H.M. and Ahn, Y.J., 2004. Toxicity of plant essential oils to *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae). *Journal of Economic Entomology*, 97(2): 553-558.
- Duchovskiene, L., Karkleliene, R., Surviliene, E. and Starkute, K., 2008. The effect of biopesticide NeemAzal-T/S on the *Tetranychus urticae* Koch in carrot seed plants under green house conditions. *Sodininkyste ir Darzininkyste*, 27(4): 177-182.
- El-Sawi, S.A., 2008. Toxicity and bioactivity of *Melia azedarach* L. on the two spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) and its predacious mite, *Euseius scutalis* (Athais-Henriot) (Acari: Phytoseiidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 18(2): 289-295.
- Guleria, S. and Tika, A., 2009. Botanicals in pest management: current status and future perspective: 317-329. In: Peshin, R. and Dhawon, A. K., (Eds.). *Integrated Pest Management: Innovation Development Process, Biomedical and Life Science*. Springer Netherlands, Jammu, India, 690p.
- Isman, M.B., 2000. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, 19(8-10): 603-608.
- Isman, M.B., Miresmailli, S. and Machial, C., 2011. Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. *Phytochemistry Reviews*, 10(2): 197-204.
- Janssen, A., Bruin, J., Jacobs, G., Schraag, R. and Sabelis, M.W., 1997. Predators use volatiles to avoid prey patches with conspecifics. *Journal of Animal Ecology*, 66(2): 223-232.
- Kim, H.K., Yun, Y.K. and Ahn, Y.J., 2008. Fumigant toxicity of cassia bark and cassia and cinnamon oil compounds to *Dermatophagoides farina* and

و فقط به‌واسطه سمیت تنفسی می‌باشد (پیرایش فر و همکاران، ۱۳۹۰ الف و ب؛ صراف معیری و همکاران، ۱۳۹۰). در این تحقیق با بررسی اثرات کشندگی تماسی عصاره زیتون تلخ و اسانس‌های گیاهی در قالب ترکیبی فرموله شده، سعی شده است تا با بهبود بخشیدن به نحوه استفاده از عصاره و اسانس‌های گیاهی، مقدمه‌ای برای استفاده کاربردی از آنها به‌عنوان آفت‌کش‌های سبز در مدیریت کنه تارتن دولکه‌ای فراهم آید.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از دست‌اندرکاران شرکت داروسازی باریج‌اسانس، بدلیل همکاری در زمینه استخراج اسانس‌های گیاهی و ساخت فرمولاسیون‌های آفت‌کش، تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع مورد استفاده

- اشرف‌جو، م. و احمدی، ک.، ۱۳۹۰. اثر اتانول و دو عصاره گیاهی اتانولی بر کنه تارتن دولکه‌ای. مجموعه مقالات نخستین کنگره کنه‌شناسی ایران، کرمان، ۱-۲ دی: ۱۲۶.
- پیرایش‌فر، ف.، صراف معیری، ح.ر. و کاوسی، ا.، ۱۳۹۰ الف. اثرات کشندگی اسانس‌های آویشن، باریجه و پونه روی کنه تارتن دولکه‌ای (*Tetranychus urticae*). مجموعه مقالات اولین کنگره علوم و فناوری‌های نوین کشاورزی، زنجان، ۱۹-۲۱ شهریور: ۴۸۲.
- پیرایش‌فر، ف.، صراف معیری، ح.ر.، کاوسی، ا.، ربی انگورانی، ح. و حسینی، ح.، ۱۳۹۰ ب. اثرات کشندگی سه گونه از گیاهان دارویی خانواده نعنائیان روی کنه تارتن دولکه‌ای. مجموعه مقالات پنجمین همایش یافته‌های غرب کشور، سنندج، ۲۹-۲۸ اردیبهشت: ۴۸۶.
- صراف معیری، ح.ر.، پیرایش‌فر، ف. و کاوسی، ا.، ۱۳۹۰. اثرات کشندگی اسانس‌های زیره سبز، رازیانه و نعناع روی کنه تارتن دولکه‌ای (*Tetranychus urticae* Koch). مجموعه مقالات چهارمین همایش ملی حیوانات اراک، ۱۹-۲۱ بهمن: ۲۵۷.
- Amer, S.A.A., Mohamed, F.S.A., Kamel, A.M., Zakeya, E.A.D., Huda, E.H. and EL-Desouley, M.E., 2011. Acaricidal activity of some Lamiaceae

- Moretti, M.D.L., Sanna-Passino, G., Demontis, S. and Bazzoni, E., 2002. Essential oil formulations useful as a new tool for insect pest control. *American Association of Pharmaceutical Science*, 3(2): 64-74
- Nardo, E.A.B., Costa, A.S. and Lourencao, A.L., 1997. *Melia azedarach* extract as an antifeedant to *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Florida Entomologist*, 80(1): 92-94.
- Pumnuan, J., in Sung, A. and Chandrapatya, A., 2008. Acaricidal effects of herb extracts on the mushroom mites, *Luciaphorus perniciosus* Rack and *Formicomotes heteromorphus* Magowski. *Systematic and Applied Acarology*, 13(1): 33-38.
- Robertson, J L., Russell, R.M., Preisler, H.K. and Savin, N.E., 2007. *Bioassay with Arthropods*. Taylor & Francis Group, London, 199p.
- Roh, H.S., Lim, E.G., Kim, J. and Park, C.G., 2011. Acaricidal and oviposition deterring effects of santalol identified in sandalwood oil against two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Journal of Pest Science*, 84(4): 495-501.
- Tunc, I. and Sahinkaya, S., 1998. Sensitivity of two greenhouse pests to vapours of essential oils. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 86(2): 183-187.
- Veeraphant, C., Mahakittikun, V. and Soonthornchareonnon, N., 2011. Acaricidal effects of Thai herbal essential oils against *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Journal of Pharmaceutical Science*, 38(3-4): 1-12.
- Whalon, M. E., Mota-Sanchez, D., Hollingworth, R.M. and Duynslager, L., 2012. *Arthropod Pesticide Resistance Database*, ([http:// www.pesticide-resistance.org](http://www.pesticide-resistance.org)).
- *Dermatophagoides pteronyssinus* (Acari: Pyroglyphidae). *Experimental and Applied Acarology*, 44: 1-9.
- Kim, D.I., Kim, S.G., Kang, B.R., Ko, S. J., Kim, J.S. and Kim, S.S., 2009. Management of two spotted spider mite, *Tetranychus urticae*, on organic strawberry field in Jeonnam area and toxicity of natural enemies against crude extract of *Chrysanthimum cinerariifolium* and *Melia azedarach*. *Korean Journal of Organic Agriculture*, 17(2): 211-226.
- Koul, O., Walia, S. and Dhaliwal, G.S., 2008. Essential oils as green pesticides: potential and constraints. *Biopesticides International*, 4(1): 63-84.
- LeOra Software., 1987. *POLO-PC, user's guide to probit or logit analysis*, LeOra Software Inc., Berkeley, CA.
- Makundi, R. H. and Kashenge, S., 2002. Comparative efficacy of neem, *Azadirachta indica*, extract formulations and the synthetic acaricide, Amitraz (Mitac) against the two spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae), on tomatoes, *Lycopersicum aesculentum*. *Zschr Pflanzkr Pflanzenschutz*, 109: 57-63.
- Miresmailli, S., Bradbury, R. and Isman, M.B., 2006. Comparative toxicity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil and blends of its major constituents against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) on two different host plants. *Pest Management Science*, 62(4): 366-371.
- Miresmailli, S. and Isman, M.B., 2006. Efficacy and persistence of rosemary oil as an acaricide against two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae) on greenhouse tomato. *Journal of Economic Entomology*, 99(6): 2015-2023.

Acaricidal effect of some formulated compositions based on cinabery extract and herbal essential oils on the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*)

H.R. Sarraf Moayeri^{1*}, F. Pirayeshfar², N. Azizian² and A.R. Bolandnazar³

1*- Corresponding author, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Iran

E-mail: hamidsarrafm@gmail.com

2- MSc. Student, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

3- Barij Essence Medicinal Plants Research Centre, Kashan, Iran

Received: December 2012

Revised: September 2013

Accepted: September 2013

Abstract

The two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch, is one of the most common and dangerous pests for agricultural crops worldwide. Frequent pesticide applications have caused development of resistance to pesticides, undesirable effects on non-target organisms and environmental pollutions. Plant essential oils have recently attracted particular attention as alternative agents of chemical pesticides because of lower risks for human and mammals, rapid biodegradation and less environmental hazards. In this study, contact toxicity of nine formulated compositions based on herbal essential oils including rosemary, pennyroyal, peppermint and cinnamon essential oils plus fruit extract of chinaberry by leaf dipping method were tested against female adults of *T. urticae*. Experiments were carried out at $25\pm 1^\circ\text{C}$, $70\pm 5\%$ RH and under a photoperiod of 16L: 8D. Results showed that formulated composition based on fruit extract of chinaberry and rosemary and peppermint oils (chinaberry 5% + peppermint 2% + rosemary 2%) significantly had the highest lethal effect and lowest LC_{50} and LC_{90} values (3.399 and 10.102 ml/l, respectively) 24 h. after treatment, against the adults of *T. urticae*, indicating significant potential for two-spotted spider mite management.

Keywords: Plant essential oils, bioassay, mortality, LC_{50} .