



بررسی اثر دو اسانس گیاهی بر کشندگی کنه تارتن دولکه ای، *Tetranychus urticae* Koch روی توت فرنگی

امیرحسین حیدری نژاد طهرانی^۱، حبیب عباسی پور^۲، علیرضا رضازاده^۳

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد حشره شناسی کشاورزی، گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران

insect775@gmail.com

۲- استاد حشره شناسی کشاورزی، گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران

۳- استادیار بیوشیمی گیاهی، گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران

کنه تارتن دو لکه ای (*Tetranychus urticae* Koch) یکی از آفات کلیدی و تاثیرگذار پلی فاژمی باشد. در تحقیق پیش رو اثر کشندگی و LC₅₀ اسانس های گیاهی زیتون تلخ (*Melia azedarach*) و بادرنجبویه (*Dracocephalum polychaetum*) در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. آزمایش در شرایط دمایی 25±5 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 60±5 درصد و 16 ساعت روشنایی و 8 ساعت تاریکی انجام شد. آزمایش تاثیر اسانس بر مرگومیر کنه بالغ تارتن برای زیتون تلخ و بادرنجبویه در پنج غلظت مختلف در 4 تکرار و یک تکرار شاهد انجام گرفت. در آزمایش غلظت کشنده 50 درصد (LC₅₀) زیتون تلخ و بادرنجبویه در پنج غلظت مختلف انجام گرفت. نتایج نشان داد که هر دو اسانس مورد مطالعه دارای سمیت تنفسی زیاد روی مرحله بالغ کنه تارتن دو لکه ای هستند. اسانس زیتون تلخ دارای بیشترین میزان کشندگی و پایین ترین مقدار LC₅₀ بعد از 24 و 48 ساعت (به ترتیب 20/841 و 13/632 میکرولیتر بر لیتر هوا) بود. همچنین نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که حد محاسبه شده برای کنه بالغ دو لکه ای، *T. urticae* پس از گذشت 24 ساعت اسانس نشان داد که کمترین مقدار مربوط به اسانس بادرنجبویه (1/004 میکرولیتر بر لیتر هوا) و بیشترین میزان مربوط به اسانس زیتون تلخ (8/293 میکرولیتر بر لیتر هوا) می باشد. بطور کلی اسانس گیاه زیتون تلخ با دارا بودن ترکیبات گاما بوتیریتیک اسید، ترکیبات لاندا و بیتا و ماریوفیلین اکسایدی ترکیب بسیار مناسبی در قالب مدیریت تلفیقی آفات به ویژه در سیستم های کشت گلخانه ای جهت اثرات کشندگی و زیرکشندگی و حد پایین در دزهای کشنده LC₅₀ می تواند علیه کنه تارتن دولکه ای، *T. urticae* مورد استفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: اسانس های گیاهی، اثر بالغ کشی، LC₅₀، کنه تارتن دولکه ای، زیتون تلخ، بادرنجبویه

۱. مقدمه

کنه تارتن دو لکه ای (*Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) دارای انتشار جهانی بوده و یکی از آفات چندخوار (پلی فاژ) شناخته شده است، به طوری که بیش از 1000 گونه میزبان در یکصد خانواده گیاهی دارد. این آفت علاوه بر عرصه های کشاورزی در جنگل ها، مراتع نیز جزو عوامل خسارت زا شناسایی شده است. این کنه در گلخانه های توت فرنگی بسیار زیاد رصد شده است و دارای اثرات خسارت زایی شدید روی اندام های گیاهی و میوه می باشد [1]. کنه تارتن با فرو بردن کلیسره های میله ای خود به درون سلول برگ و تهی نمودن محتویات آن ها و تخریب سبزینه،



رشد گیاه را دچار اختلال می کنند. در سلول های خسارت دیده در ابتدا نقاط ریز و زرد رنگی نمایان می شود که با افزایش تغذیه، مجموع سلول های آسیب دیده به صورت لکه ها و نقاط زرد رنگ به روی سطح فوقانی و تحتانی برگ خسارت دیده ظاهر می شود که در نهایت برگ های خسارت دیده به رنگ قهوه ای روشن در آمده و ریزش می کنند.

با توجه به نیازهای امروزه و گرایش سازمان جهانی کشاورزی (FAO) نسبت به عرضه و کشت محصولات ارگانیک و کاستن صدمات زیست محیطی در سطح کره زمین، همچنین زیاد بودن آمار خسارت زایی کنه تارتن دولکه ای در سطح مزرعه، مراتع و به ویژه گلخانه باید به فکر استفاده از روش های جدید و زود بازده به همراه کاهش هزینه های تحمیلی بر کشاورز و از آن مهمتر کاهش مصرف سموم کنه کش، پژوهش ها برای پیدا کردن راهکاری مناسب شکل جدیدتری به خود گرفته است. دورکننده های شیمیایی شناخته شده در گیاهان شامل بعضی از اسانس های گیاهی است که سمیت تنفسی آنها روی حشرات و کنه ها بررسی شده است. آکالوئیدها، فنل ها و ترپنوییدها و منوترپن های تک حلقه ای، دو حلقه ای و بدون حلقه، ترکیبات اصلی اسانس ها می باشند که در کشندگی و دورکنندگی حشرات و کنه ها نقش موثری دارا هستند. ترکیبات کشنده و دورکننده در دزهای زیرکشنده اثر کرده و نقش پیشگیری دارند و در حفاظت محیط زیست از آلودگی نقش تعیین کننده ای را ایفا میکنند.

در تحقیقات گذشته استفاده از اسانس گیاهی خانواده نعنائیان شامل رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.)، مرزه (*Saturegia hortensis* L.) و نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) به روش زیست سنجی بر روی کنه بالغ تارتن دولکه ای انجام شده که اثرات دورکنندگی و کشندگی خوبی داشته اند [۲]. در تحقیقی مظفری [۳] اثر اسانس و عصاره گیاه پونه، دارچین و سرو بر کنه تارتن دو لکه ای *T. urticae* را مورد بررسی قرار داد. بر اساس LC_{50} به دست آمده، کنه تارتن دو لکه ای در مرحله بالغ ماده و تخم به اسانس پونه حساسیت بیشتری نشان داد. در تحقیقی عزیزیان و همکاران [۴] اثر کشندگی و دورکنندگی ۶ ترکیب فرموله شده بر پایه اسانس های گیاهی بر علیه کنه تارتن دولکه ای استفاده نمودند. نتایج نشان داد که از میان تیمارهای مورد بررسی، ترکیب فرموله شده با زیتون تلخ + نعناع فلفلی + پونه + اکالیپتوس بالاترین میزان کشندگی و کمترین میزان LC_{50} را داشته است.

در این پژوهش سعی شده با استفاده از تاثیر مواد و اسانس های گیاهی و جایگزینی آنها در مقابل سموم در گلخانه توت فرنگی تاثیر کنه کشی و LC_{50} آنها بر روی مرحله ای بالغ کنه تارتن دو لکه ای مورد بررسی قرار گرفت تا جایگزین مناسب و بهتری نسبت به سموم باشند.

۲. مواد و روش ها

۲-۱. تهیه و پرورش کنه تارتن دو لکه ای

جمع آوری کلونی اولیه این آفت از کلنی موجود در دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران و همچنین از روی برگ های خیار، لوبیا، توت فرنگی و کوکب آلوده به کنه از گلخانه های البرز، ورامین و پاکدشت انجام شد. پس از شناسایی و تأیید گونه پرورش این آفت در محیط گلخانه با دمای 25 ± 2 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 5 ± 60 درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی صورت گرفت. آلوده سازی بوته های توت فرنگی در مرحله ۳ تا ۴ برگی انجام گرفت. پس از تشکیل کلنی و نگهداری آنها برای چند نسل، از کنه های بالغ جهت انجام آزمایش استفاده شد.

۲-۲. جمع آوری و تهیه اسانس گیاهان



برای تهیه اسانس، سرشاخه‌های گل‌دار و میوه‌های روییده درخت زیتون تلخ کاشته شده در محوطه دانشگاه شاهد را در فصل پاییز و زمستان سال ۹۸ جمع آوری نموده، سپس در آزمایشگاه در شرایط سایه خشک نموده و با دستگاه میکسر آن را پودر نمودیم. برای بادرنجبویه هم، برگ و سرشاخه‌های جوان آن را در اردیبهشت سال ۱۳۹۸ از مزرعه گیاهان دارویی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان تهران جمع آوری و در شرایط آزمایشگاهی سایه خشک نمودیم. نمونه اسانس زیتون تلخ و بادرنجبویه را به روش استخراج و تقطیر با بخار آب با دستگاه کلونجر (Clevenger) همزمان با حلالیت آبی (SDE) اسانس‌گیری نموده، میزان بازدهی اسانس بر حسب درصد وزنی / وزنی محاسبه گردید. پس از آبیگری به وسیله سدیم سولفات، داخل شیشه تیره تا زمان استفاده در یخچال نگهداری نمودیم.

۲-۳. تاثیر اسانس‌های گیاهی بر میزان مرگ‌ومیر کنه بالغ

بدین منظور تعداد ۱۰ عدد کنه بالغ را که از نظر زمان تفریح تخم باهم یکسان بودند را انتخاب نموده و داخل یک پتری دیش پلاستیکی در بسته به قطر ۶ سانتی‌متر قرار گرفت. یک قطعه کاغذ صافی به قطر ۳ سانتی‌متر را با میکروپیپت با غلظت‌های اسانس زیتون تلخ (۰/۴۳، ۰/۷۳، ۰/۱۲۰، ۰/۱۷۰، ۰/۲۱۰ میکرولیتر بر لیتر هوا) و بادرنجبویه (۰/۶۰، ۰/۹۰، ۰/۱۷۰، ۰/۲۲۵ و ۰/۲۷۵ میکرولیتر بر لیتر هوا) در زیر درب ظرف قرار گرفت. سپس میزان مرگ‌ومیر به صورت روزانه ثبت و در نمونه شاهد نیز ثبت گردید. این آزمایش در ۴ تکرار به صورت طرح کاملاً تصادفی انجام شد [۵].

۲-۴. آزمایش اندازه‌گیری غلظت کشنده LC50

ابتدا یکسری آزمایش مقدماتی برای بدست آوردن غلظت‌های حداقل و حداکثر از اسانس‌های ذکر شده روی کنه تارتن دولکه‌ای انجام گرفت. در مرحله اول یک غلظت از اسانس مورد جداسازی کرده را مورد بررسی قرار دادیم، سپس غلظت دوم را ۲ تا ۱۰ برابر غلظت اول انتخاب کرده، غلظت سوم ۲ تا ۱۰ برابر غلظت دوم انتخاب شد به این شکل تا پنج غلظت را مورد بررسی قرار دادیم. برای تیمار شاهد از آب مقطر استفاده شد. برای محاسبه غلظت کشنده ۵۰ درصد (LC50)، غلظت‌های در محدوده مرگ‌ومیر ۱۰ تا ۹۰ درصد (که بر اساس آزمایشات مقدماتی تعیین شدند) با ۱۰ تکرار صورت گرفت. غلظت‌های نهایی زیتون تلخ (۲۵، ۴۵، ۶۵، ۸۵ و ۱۰۵ میکرولیتر بر لیتر هوا) و بادرنجبویه (۹۰، ۱۱۰، ۱۳۰، ۱۵۰ و ۱۷۰ میکرولیتر بر لیتر هوا) بکار رفته است.

۲-۵. آنالیز آماری داده‌ها

کلیه آزمایشات مربوط در شرایط آزمایشگاهی به صورت طرح کاملاً تصادفی انجام شد. سپس تجزیه واریانس با نرم‌افزار SPSS انجام شد و در صورت معنی‌دار بودن داده‌ها جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون توکی در سطح پنج درصد استفاده شد. همچنین برای محاسبه غلظت کشنده ۵۰٪ از نرم‌افزار Polo-Pc استفاده شد و برای رسم نمودار از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

۳. نتایج

۳-۱. اثر کنه کشی اسانس‌های گیاهی روی کنه بالغ تارتن دو لکه ای

سمیت تدخینی اسانس‌های گیاهی روی مرحله بالغ کنه تارتن دو لکه ای نشان داد که هر دو اسانس مورد مطالعه دارای سمیت تنفسی زیاد روی مرحله بالغ کنه تارتن دو لکه ای هستند. در بین تیمارهای مورد بررسی اسانس زیتون تلخ دارای بیشترین میزان کشندگی و پایین ترین مقدار LC50، بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت بود (به ترتیب ۲۰/۸۴۱ و ۱۳/۶۳۲



میکرولیتر بر لیتر هوا) (جدول ۱). مقدار LC₅₀ برای اسانس بادرنجبویه پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت از تاثیر تیمار به ترتیب ۴۸/۷۲ و ۵۰/۸۷ میکرولیتر بر لیتر هوا) محاسبه شد (جدول ۱)

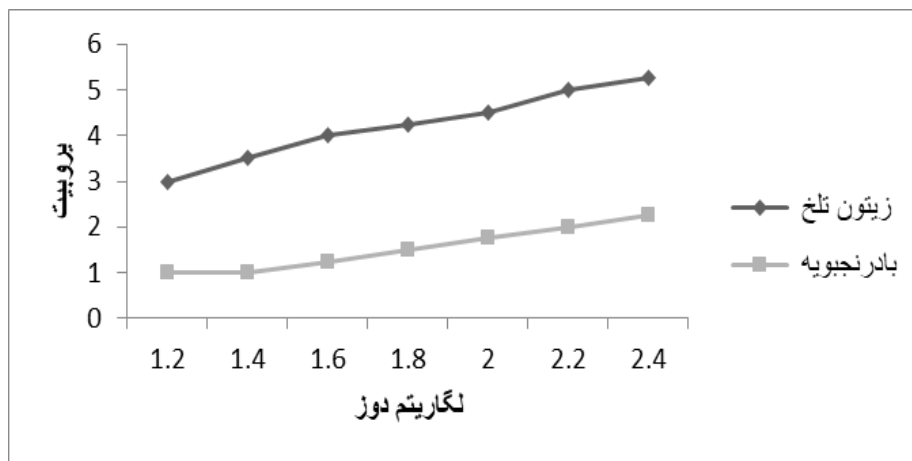
جدول ۱- سمیت تدخینی اسانس زیتون تلخ و بادرنجبویه روی مرحله بالغ کنه تارتن دو لکه ای، *T. urticae*
روی توت فرنگی به ترتیب ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تیمار

زمان	اسانس	تعداد کنه	LC ₅₀ (μL/L air)	سطح اطمینان %۹۵	LC ₉₀ (μL/L air)	سطح اطمینان %۹۵	شیب خط ± خطای استاندارد	χ ²
۲۴ ساعت	زیتون تلخ	۲۴۰	۲۰/۸۴	۱۷/۱۰۵-۴۰/۵۱	۶۰/۵۳	۴۳/۶۳۸-۱۰۱/۰۳۹	۲/۲۹۸±۰/۳۱۴	۲/۷۵۸*
	بادرنجبویه	۲۴۰	۴۸/۷۲	۵۰/۹۷۸-۶۰/۲۳۳	۸۵/۴۲	۷۳/۶۷۷-۱۰۸/۴۸۳	۵/۷۸۹±۰/۸۷۷	۲/۶۷۳*
۴۸ ساعت	زیتون تلخ	۲۴۰	۱۳/۶۳	۹/۷۳۶-۱۸/۶۸۸	۴۶/۴۸	۳۲/۱۰۵-۱۳۵/۱۹۶	۲/۴۵۵±۰/۷۶۹	۳/۱۷۹*
	بادرنجبویه	۲۴۰	۵۰/۸۷	۴۳/۶۹-۶۷/۹۳۶	۸۹/۴۱	۷۱/۸۵۳-۱۱۹/۶۵۷	۷/۹۶۲±۰/۸۱۲	۷/۰۳۶*

* معنی دار بودن در سطح احتمال ۵٪ (P<۰/۰۵)



(A)



(B)

شکل ۱- نمودار پروبیت کنه بالغ کشی اسانس زیتون تلخ و بادرنجبویه ۲۴ (A) و ۴۸ (B) ساعت پس از تیمار



آزمایش نشان داد که هر دو اسانس خاصیت بالغ کشی دارند، از زمان کاربرد اسانس میزان حساسیت کنه‌ی بالغ تارتن دولکه ای، *T. urticae* به اسانس متفاوت است.

۲-۳. مقادیر LC₅₀ اسانس‌های گیاهی روی کنه تارتن دو لکه ای روی گیاه توت فرنگی

نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که اسانس هر دو گیاه مورد مطالعه خاصیت کنه‌کشی دارند. حد محاسبه شده برای کنه بالغ دو لکه ای، *T. urticae* پس از گذشت ۲۴ ساعت اسانس نشان داد که کمترین مقدار مربوط به اسانس بادرنجبویه (۱/۰۰۴ میکرولیتر بر لیتر هوا) و بیشترین میزان مربوط به اسانس زیتون تلخ (۸/۲۹۳ میکرولیتر بر لیتر هوا) می‌باشد.

جدول ۳- مقادیر محاسبه شده LC₅₀ برای اسانس زیتون تلخ و بادرنجبویه روی مرحله‌ی بالغ کنه تارتن دولکه ای، *T. urticae* روی توت فرنگی

اسانس مورد آزمایش	n	P-value	df	χ^2	Slope±SE	LC ₅₀ (μL/L air) حد پایین - حد بالا	LC ₉₀ (μL/L air) حد پایین - حد بالا
زیتون تلخ، <i>Melia azedarach</i>	۵۰۰	۱/۰۵۹	۶	۵۸/۱۱	۴/۸۳±۰/۵۷	۸/۲۹۳ ۷/۴۹-۸/۲۲۰	۱۴/۵۶ ۱۳/۳۶-۱۵/۱۹
بادرنجبویه، <i>Dracocephalum polychaetum</i>	۵۰۰	۰/۹۹۲	۶	۶۳/۸۰	۳/۱۱±۰/۳۴	۱/۰۰۴ ۰/۹۱-۱/۰۷۲	۳/۶۳ ۲/۸۶-۴/۴۵

آزمایش انجام شده نشان داد که هر دو اسانس خاصیت بالغ کشی کنه تارتن دولکه ای را دارا هستند و از زمان بکارگیری اسانس میزان واکنش کنه‌ی بالغ تارتن دولکه ای، *T. urticae* به اسانس متفاوت است.

۴. بحث

بر اساس مطالعاتی که Abd El-Moneim Mr Afify و همکاران [۶] انجام دادند، اسانس بابونه و اکالیپتوس و مرزه بر روی بالغ و تخم کنه تارتن دو لکه ای، *T. urticae* سمیت ایجاد نمودند و از بین ۳ اسانس، بابونه بیشترین اثر را داشت. شاددل و همکاران [۷] اثر عصاره توتون، اسپند، آویشن کوهی، دود توتون، دود اسپند، و دود آویشن کوهی را روی کنه واروآ، *Varroa destructor* (jacobsoni) Anderson & Trueman (Arachnida: Acari: Varroidae) مورد آزمایش قرار دادند و عصاره توتون بیشترین تاثیر را در کنترل کنه از خود نشان داد.

۵. نتیجه گیری

امروزه با توجه به گسترش روند استفاده از ترکیبات شیمیایی در کنترل آفات و عوارض سوء مصرف جانبی این ترکیبات در محیط زیست و کوشش محققان بر استفاده از ترکیبات امن و کم خطر که تاثیر کشندگی دارند، از روش‌های نوین و دارای اثرات زیست محیطی سازگارتر در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه ای می‌باشد. اسانس گیاه زیتون تلخ جایگزین بسیار مطمئن و سریع اثری نسبت به دیگر روش‌های پرمخاطره شیمیایی است. این اسانس با دارا بودن ترکیبات گاما بوتیرتیک



اسید، ترکیبات لاندا و بیتا و ماریوفیلین اکسایدی مورد بسیار مناسبی در قالب مدیریت تلفیقی آفات به ویژه در سیستم‌های کشت گلخانه ای جهت اثرات کشندگی و زیرکشندگی و حد پایین در دزهای کشنده LC50 مورد استفاده واقع شود. تاکنون اثرات کشندگی و زیرکشندگی کنه تارتن دولکه ای، *T. urticae* روی این دو اسانس گیاهی صورت نگرفته است و این پژوهش نخستین بار گزارش می‌گردد.

قدردانی

از کارشناسان و همکاران دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد که در اجرای این پژوهش ما را یاری نمودند، قدردانی می‌گردد.

فهرست منابع

۱. مدرس اول، م. (۱۳۹۱). فهرست آفات کشاورزی ایران و دشمنان طبیعی آنها. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، ۷۸۸ ص.
۲. صراف معیری، ح.ر.، پیرایش فر، ف. و کاوسی، ا. (۱۳۹۲). اثر دورکنندگی سه اسانس گیاهی روی کنه تارتن دو لکه ای، *T. urticae* Koch. مجله دانش گیاهپزشکی ایران، ۴۴(۱): ۷۳-۹۱.
۳. مظفری، ف. (۱۳۸۸). بررسی اثر اسانس‌های گیاهی بر کنه‌ی دو لکه ای *Teranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد، تهران.
۴. عزیزبان، ن.، بلندنظر، ع.، کاوسی، ا. و صراف معیری، ح. (۱۳۹۳). اثر تماسی فرمولاسیون‌های تهیه شده بر مبنای عصاره و اسانس‌های گیاهی روی کنه تارتن دولکه‌ای. نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)، ۳(۲۸): ۳۹۳-۳۹۹.
5. Finney, D.J. (1971). Profit Analysis Cambridge university press. Cambridge, 333.
6. Abd El-Moneim M.R. Afify. (2011). Recent Techniques Applied for Pesticides Identification and Determination in Natural Products and Its Impact to Human Health Risk, Pesticides in the Modern World - Trends in Pesticides Analysis, Margarita Stoytcheva, IntechOpen, Available from: <https://www.intechopen.com/chapters/20995>.
۷. شاددل تیلی، ع.، ماهری سیس، ن.، آقاجان زاده گلشنی، ا.، اسعدی دیزجی، ا.، احمدزاده، ع. (۱۳۸۷). بررسی اثر استفاده از گیاهان توتون، اسپند و آویشن کوهی در کنترل کنه واروای زنبور عسل. بوم شناسی گیاهان زراعی (دانش نوین کشاورزی)، ۴(۱۰): ۶۷-۷۲.