Archive of SID

تحقیقات آفات گیاهی
۱۰(۳): ۶۱-۷۶ - ۱۳۹۹

علمی پژوهشی

کارایی فرمولاسیون‌های EC چریش (۱٪/۲۸) و نیمارین® (۱٪) روی لیسک *Agriolimax agrestis* در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای

الهام احمدی[۱*]، مولود غلام‌زاده چیتگر[۲]، زهرا مجیب حق‌قدم[۳] و احمد حیدری[۴]

۱- بخش تحقیقات جانورشناسی کشاورزی، موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ۲-بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان مازندران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران، ۳- بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گیلان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران، ۴- بخش تحقیقات آفت‌کش‌ها، موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۵/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۸/۳)

چکیده

تاثیر فرمولاسیون‌های جدید چریش، نیمارین® و متالدئید بر لیسک *A. agrestis* در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای ارزیابی شد. در آزمایش‌های زیست‌سنجی، برگ‌های گیاه زینتی اسپاتیفیلوم (*Spathiphyllum wallisii* Regel) در غلظت‌های مختلف چریش و نیمارین® غوطه‌ور و سپس لیسک‌های هم‌سن نابالغ روی برگ‌ها رهاسازی شده و میزان مرگ و میر و تغذیه آن‌ها تا ۱۴ روز تعیین شد. مقادیر LC_{50} برای چریش و نیمارین® به ترتیب ۳۴/۱ و ۲۲/۵ در هزار و سمیت نسبی نیمارین® ۱/۵۹ برابر چریش برآورد شد. آزمایش‌های گلخانه‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۴ تیمار انجام و بیش‌ترین تاثیر تیمارها بعد از ۱۵ روز مربوط به متالدئید با میانگین مرگ و میر ۹۵/۷۵ درصد در مقایسه با چریش و نیمارین® به ترتیب با میانگین‌های ۴۷/۸۵ و ۵۱/۶۳ درصد به‌دست آمد. همچنین، تاثیر چریش و نیمارین® بر تغذیه به ترتیب ۱/۷۲ و ۱/۹ گرم در مقایسه با شاهد (۹ گرم) بود و درصد تفریخ تخم در مقایسه با شاهد به‌صورت معنی‌داری کاهش یافت. بر اساس نتایج، ترکیبات چریش و نیمارین® به ترتیب در غلظت‌های ۳۴/۱ و ۲۲/۵ در هزار و تا ده برابر آن روی برگ‌های اسپاتیفیلوم، در تغذیه *A. agrestis* اثر منفی داشته و سبب کاهش خسارت آن در شرایط گلخانه‌ای شد. این اثر با افزایش سن و جثه لیسک و در پی آن افزایش غلظت، حفظ شد. با این حال ترکیبات مذکور از لحاظ کشندگی در مقایسه با سم متالدئید ضعیف‌تر عمل کردند.

واژه‌های کلیدی: *Agriolimax agrestis*، چریش، نیمارین®، متالدئید

*نویسنده مسئول: e1_ahmadi@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

لیسک‌ها مهم‌ترین آفات سبزی‌های برگی در گلخانه‌ها و فضای باز به خصوص در استان‌های شمالی کشور به شمار می‌آیند. این آفات ضمن ایجاد خسارت کمی از طریق تغذیه از برگ، گل، ساقه، ریشه و بذور گیاهان زینتی، سبب کاهش کیفیت محصول هم می‌شوند (Ahmadi, 2009). در گلخانه‌های کشور به علت شرایط مناسب اقلیمی (حرارت معتدل و رطوبت نسبی بالا)، فعالیت لیسک‌ها و شدت خسارت آن‌ها بسیار زیاد است و این موضوع از عوامل مهم استفاده وسیع از لیسک‌کش‌ها می‌باشد که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به متالدئید اشاره کرد (Noorbakhsh *et al*., 2011). سابقه مبارزه با نرم‌تنان در کشور در حدود چهل سال استمرار داشته و در این مدت افزایش سطح زیر کشت و توسعه گلخانه‌ها، افزایش مصرف لیسک‌کش‌ها را به دنبال داشته است. به طوری‌که درصد قابل ملاحظه‌ای از لیسک‌کش‌ها در گلخانه‌ها به خصوص در استان‌های شمالی کشور برای کنترل این گونه‌ها اختصاص یافته است (Ahmadi, 2010). کاهش مصرف سموم شیمیایی به منظور به حداقل رساندن باقی‌مانده سموم روی محصولات کشاورزی، یکی از ملزومات اساسی امنیت غذایی به حساب می‌آید (Namvar *et al*., 2011). بنابراین، انتخاب سموم غیر شیمیایی با تاثیر کافی روی این دسته از آفات و با کمترین اثر سوء زیست محیطی از اولویت‌های مهم می‌باشد. متاسفانه در حال حاضر به جز متالدئید و فریکول، ترکیب ثبت شده دیگری در کشور برای کنترل لیسک‌ها وجود ندارد. در این میان، استفاده از ترکیبات استخراج شده از گیاهان به عنوان آفت‌کش می‌تواند جایگاه خاصی در کنترل آفات داشته باشد (Barker, 2002). آفت‌کش‌های با منشاء گیاهی، عموماً برای انسان و سایر پستانداران و همچنین دشمنان طبیعی کم‌خطر هستند و در طبیعت نیز به سرعت تجزیه می‌شوند (Isman, 2000). بررسی‌ها نشان می‌دهد که تاکنون بررسی‌های زیادی در خصوص کارایی ترکیبات با منشا گیاهی، عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی روی آفات مختلف انجام شده است (Rastegari *et al*., 2016; Bolandnazar *et al*., 2017; HeidaryAlizadeh *et al*., 2017; Taghizadeh Saroukolai *et al*., 2017).

درخت چریش با نام علمی *Azadirachta indica* A. Juss از خانواده Meliaceae، یکی از گیاهان دارای خواص آفت‌کشی می‌باشد که طی ۲۵ سال گذشته، پژوهش‌های وسیعی درباره تاثیر آن به عنوان حشره‌کش، کنه‌کش، نماتدکش، لیسک‌کش، قارچ‌کش و دورکننده حشرات و تنظیم‌کننده رشد آن‌ها انجام شده است (Tirgari *et al*., 2006; Ploomi *et al*., 2009; Modarres Najafabadi, 2010; Salahi Ardakani and Hoseininejad Seied, 2012; Shakarami *et al*., 2014; HeidaryAlizadeh *et al*., 2017; Anoop *et al*., 2019).

این گیاه بومی کشورهای هندوستان، برمه، پاکستان، سریلانکا، بنگلادش و مالزی بوده و در آنجا در مناطق کم آب و جنگلی به طور خودرو رشد می‌کند. این گونه به‌احتمال از هندوستان وارد ایران شده و در نواحی گرم جنوبی کشور مانند بندرعباس، چابهار و میناب پراکنده شده است (Sadeghi, 1996). ماده‌ای که بیش‌ترین فعالیت آفت‌کشی را دارد، از مغز دانه چریش استخراج می‌شود (National Research Councile, 1992). آزادیراختین ماده اکدیستروئیدی و مخلوطی از جزء ایزومریک به نام‌های آزادیراختین A تا آزادیراختین G بوده که آزادیراختین A بیشتر مورد توجه است. حدود ۲۴ ترکیب متفاوت در آزادیراختین قطبی و غیر قطبی وجود دارد که مخلوط آن‌ها به‌طور مشخصی نرخ افزایش تحمل یا مقاومت در گونه‌های مورد بررسی را کاهش داده است (Verkerk and Wright, 1993). ترکیبات فعال چریش، کم‌ترین میزان سمیت را برای پستانداران دارند و دارای ماندگاری کم روی گیاهان و همچنین دارای اثرات انتخابی روی دشمنان طبیعی آفات هستند (Isman, 2006; Khater, 2012). این ماده روی گونه‌های مختلف حلزون‌ها و لیسک‌ها دارای خواص ضد تغذیه‌ای و دورکنندگی در اختلاط با جیره غذایی و به صورت

www.SID.ir

Archive of SID

پاشیدن روی اندام‌های گیاهی بوده و نیز دارای قدرت کشندگی است (Ebenso, 2009). بررسی تاثیر عصاره‌های مختلف برگ چریش روی حلزون‌های *Limicolaria aurora* Jay و *Archachatina marginata* Swainson در گلخانه‌ها نشان داد که عصاره چریش تلفات زیادی را بعد از ۴۸ ساعت در گونه *L. aurora* و پس از ۷۲ ساعت در گونه *A. marginata* به‌وجود آورده و دارای قدرت کنترل موثری است (Ebenso, 2009). عصاره چریش روی حلزون *Zonitoides arboreus* Say در گلخانه‌ها دارای قدرت دورکنندگی بالا و بالغ بر یک هفته بوده و عملکرد آن قابل مقایسه با سموم شیمیایی گزارش شده است (Hollingsworth and Armstrong, 2008). اثر کشندگی روغن چریش به همراه ترکیبات سینرژیتی و پیپرونیل بوتوکساید (PB) و (ENt 8184) MGK- 264 روی گونه *Limnaea acuminate* Lamarck مطالعه شد و مشخص شد که روغن مذکور چه به صورت خالص و چه به صورت ترکیب با ENt وPB اثرات متفاوتی روی سیستم‌های عصبی گونه مذکور گذاشته و نقش موثری در کنترل آن داشتند (Singh and Singh, 2000). روغن چریش در دز کمتر از ۰/۰۵ میلی‌گرم در سانتی‌متر مربع بعد از ۲۴ ساعت باعث تلفات تمام تخم‌های لیسک *Deroceras reticulatum* O. F. Muller شد (Iglesias *et al*., 2009). اثر چریش روی حلزون گونه *Monacha obstructa* Muller در آزمایشگاه نشان داد که میزان تغذیه حلزون‌های نابالغ و بالغ با افزایش غلظت چریش کاهش یافته و در غلظت ده میلی‌لیتر بر لیتر، حلزون‌ها به طور کامل از تماس با غذا دوری کردند. LC_{50} برای تخم‌های تیمار شده ۲/۱۸ میلی لیتر بر لیتر بود و تخم‌ها در غلظت ده میلی‌لیتر بر لیتر تفریخ نشدند (Shoaib *et al*., 2010).

به کارگیری سموم شیمیایی در دهه‌های گذشته به منظور حفظ محصول در مقابل گونه‌های آسیب‌رسان لیسک‌ها، به دلیل جلب اعتماد کشاورزان به عنوان یکی از اولویت‌های مدیریت لیسک‌های خسارت‌زا به طور مکرر صورت گرفته است. استفاده مداوم از این سموم موجب ایجاد مقاومت در لیسک‌ها، تاثیرات سوء آن‌ها روی دشمنان طبیعی، دوام و پایداری آن‌ها در محیط زیست و در نهایت برهم خوردن تعادل اکوسیستم به نفع لیسک‌های زیان‌آور شده است (Barker, 2002). با توجه به ضرورت استفاده از روش‌های مختلف غیرشیمیایی و نظر به پتانسیل ترکیب چریش در کنترل آفات (Shakarami *et al*., 2014; HeidariAlizadeh *et al*., 2017) به عنوان روشی جدید در راستای کاهش مصرف سموم شیمیایی، در تحقیق حاضر تاثیر فرمولاسیون امولسیون چریش (EC ۱٪/۲۸) تهیه شده در بخش تحقیقات آفت‌کش‌های موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، در مقایسه با نوع تجاری آن، نیمارین® و نیز سم لیسک‌کش مجاز و به ثبت رسیده متالدئید در گلخانه‌ها روی لیسک *A. agrestis* مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

روش آزمایشگاهی

جمع‌آوری و پرورش لیسک *A. agrestis*

برای انجام آزمایش‌ها، در ابتدای فصل فعالیت لیسک‌ها، از گلخانه‌های آلوده نمونه‌های لیسک *A. agrestis* جمع‌آوری و در اتاقک رشد با دمای ۲ ± ۱۸ درجه سلسیوس، رطوبت ۵ ± ۷۵ درصد و دوره نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی در آزمایشگاه تکثیر شدند. بدین منظور، از ظروف شیشه‌ای هواکش‌دار به ابعاد ۷۰ ×۴۰ × ۶۰ سانتی‌متر مکعب و حاوی ۱۰ سانتی‌متر خاک پوکه در سطح زیرین و ۳۰ سانتی‌متر خاک گلدانی استریل بر روی آن استفاده شد. برای جلوگیری از آلودگی محیط پرورش به عوامل مختلف قارچی، باکتریایی، نماتد، حشرات و غیره، خاک ظروف استریل شد. برای ایجاد محیط مناسب پرورش از نظر تامین غذا و ایجاد پناهگاه برای لیسک‌ها، در ظروف مذکور بوته‌های گل زینتی اسپاتیفیلوم کشت شد. بدین جهت، دو

www.SID.ir

Archive of SID

پشته به فاصله عرضی ۲۰ سانتی‌متر از یکدیگر ایجاد و پاجوش‌های حداقل ۳ تا ۴ برگی در عمق سه سانتی‌متری کاشته شدند. پس از گذشت ۲۰ روز، ارتفاع گیاهان به ۱۵ سانتی‌متر رسید و تعداد ده لیسک بالغ روی آن‌ها قرار داده شد. همچنین، برای تأمین رطوبت محیط به منظور ممانعت از ایجاد اختلال در فعالیت حیاتی جانور، با یک آب‌پاش دستی روی برگ‌ها مرطوب می‌شد. برای جلوگیری از فرار لیسک‌ها از داخل ظروف، سرپوش توری مانند به قطر یک میلی‌متر تهیه و با استفاده از نوارهای چسب‌دار، به لبه‌های ظروف چسبانده شدند. اگر در طول مدت پرورش، محیط خشک باشد و یا آب اضافی در ظروف وجود داشته باشد، فعالیت حیاتی حیوان دچار اختلال می‌شود. بنابراین، از موارد دیگر حفظ بهداشت محیط، نظافت سطح برگ‌های گل اسپاتیفیلوم از فضولات لیسک‌ها و شستشو و تمیز کردن روزانه ظروف پرورش برای جلوگیری از ایجاد آلودگی و بروز بیماری در گونه مزبور بود. با توجه به مراحل رشدی لیسک‌ها که شامل چهار مرحله تخم، نئونات، لیسک جوان و بالغ است، در زیست‌سنجی‌های آزمایشگاهی از مرحله جوان و در آزمایش گلخانه‌ای از مرحله بالغ لیسک‌ها استفاده شد. برای تمایز این مراحل، از ارتباط بین مرحله رشدی و وزن لیسک‌ها کمک گرفته شد به طوری‌که بیشترین وزن لیسک‌های جوان ۰/۱ تا ۰/۲ گرم و لیسک‌های بالغ ۰/۵ تا ۱ گرم است (Zotin, 2007).

آزمایش‌های زیست‌سنجی

زیست‌سنجی مقدماتی

ترکیبات مورد آزمایش در زیست‌سنجی شامل فرمولاسیون EC چریش (۱/۲۸٪) و نیمارین® (۱٪) بودند. برای انجام این آزمایش، از برگ‌های ده‌گرمی گیاه زینتی اسپاتیفیلوم استفاده شد. برگ‌ها پس از چیدن از گیاه و توزین، در محلول‌های سمی با غلظت‌های مشخص به مدت پنج ثانیه غوطه‌ور شدند (Shoaib *et al*., 2010). برگ‌های تیمار شده روی کاغذ صافی قرار داده شدند تا قطرات آفت‌کش روی آن‌ها خشک شوند. برای حفظ رطوبت برگ در مدت آزمایش، دمبرگ درون استوانه پلاستیکی پر از آب به قطر دهانه ۳ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۱ سانتی‌متر قرار داده شد. برای جلوگیری از تبخیر آب، دور تا دور دهانه لوله با پنبه مرطوب پوشانیده شده و برای ثابت نگهداشتن، هر لوله در داخل خاک گلدان تعبیه شد. روزانه مقدار آب داخل لوله بازدید و آب از دست رفته با آب‌فشان افزوده می‌شد. هر گلدان با پارچه توری محصور و تعداد ده عدد لیسک در زیر پوشش توری رهاسازی شد. گلدان‌ها در شرایط اتاقک رشد نگهداری و تلفات و تغذیه لیسک‌ها به مدت ۱۴ روز و هر ۲۴ ساعت یادداشت شدند. بدین ترتیب، غلظت‌هایی که ۲۵ - ۷۵ درصد مرگ و میر ایجاد کردند، تعیین و سپس، غلظت‌های بینابین با استفاده از فاصله لگاریتمی محاسبه شدند (Roberdson and Priesler, 1992). قابل ذکر است که لیسک‌ها قبل از آزمایش زیست-سنجی به مدت ۲۴ ساعت در قفس‌های پرورش گرسنه نگه داشته شدند. همچنین، نظر به اینکه خسارت لیسک‌ها در دو مرحله نابالغ و بالغ با توجه به جثه جانور و میزان تغذیه متفاوت است، بنابراین در آزمایش‌ها، جثه لیسک، مدنظر قرار داده شد و برای حصول نتایج دقیق، همه جانوران در شروع آزمایش وزن شدند. از لیسک‌های جوان نابالغ به وزن ۰/۱ تا ۰/۲ گرم در آزمایش زیست‌سنجی استفاده شد (Zotin, 2007).

زیست‌سنجی نهایی

آزمایش اصلی زیست‌سنجی با پنج غلظت در محدوده غلظت‌های ۵-۳۵ و ۱۰-۴۵ در هزار به ترتیب برای نیمارین® (۱٪ EC) و چریش (۱/۲۸٪ EC)، در چهار تکرار به همراه شاهد (آب) انجام شد. در هر تکرار، از ده عدد لیسک نابالغ هم‌سن و با وزن ۰/۱ تا ۰/۲ گرم استفاده شد. زیست‌سنجی مشابه روش ارائه شده در آزمون مقدماتی اجرا و تلفات هر روز و به مدت ۱۴ روز ارزیابی و ثبت شد. میزان تلفات و تغذیه به عنوان عکس‌العمل در نظر گرفته شدند. برای تشخیص لیسک‌های مرده از زنده، ابتدا توسط سوزن تشریح ضربه زده شد و در صورت عدم مشاهده تحرک و فقدان حرکت سطح پوست، لیسک مرده به حساب می‌آمد. برای

www.SID.ir

Archive of SID

برآورد LC_{50}، شیب خط، chi- square، درجه آزادی، حدود اطمینان غلظت‌های مورد نظر و فرضیه موازی بودن و معادل بودن خطوط رگرسیون (Hypothesis of parallelism and equality) از نرم‌افزار POLO-PC استفاده شد (LeOra software, 1987).

آزمایش ارزیابی میزان تخم‌کشی

توده‌های تخم گذاشته شده لیسک *A. agrestis* توسط برس جمع‌آوری شدند. تخم‌ها در دسته‌های ده‌تایی داخل ظروف پتری حاوی خاک مرطوب استریل قرار داده شدند. سموم نیمارین® (۱٪ EC) و چریش (۱/۲۸٪ EC) با غلظت ۱۰ برابر LC_{50} به ترتیب ۲۲۵ و ۳۴۱ در هزار و شاهد (آب) به میزان دو میلی‌لیتر روی توده‌های تخم، محلول‌پاشی شدند. آزمایش در همان دما، رطوبت و دوره نوری که آزمایش‌های زیست‌سنجی انجام شد، صورت گرفت. تعداد تخم‌های تفریخ شده برای دو هفته ثبت و درصد تفریخ تخم‌ها محاسبه شد.

روش گلخانه‌ای

پس از انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی و تعیین غلظت-های موثر روی لیسک‌ها برای دست‌یابی به نتیجه دقیق‌تردر کنترل آفت، غلظت مؤثر سموم گیاهی نیمارین® (۱٪ EC) و چریش (۱/۲۸٪ EC) در مقایسه با سم شیمیایی متالدئید در چهار تیمار شامل نیمارین® (۱٪ EC)، چریش (۱/۲۸٪ EC)، سم متالدئید (تهیه شده از شرکت سمیران) و شاهد (آب) در قالب طرح کاملاً تصادفی در گلخانه‌های مراکز تحقیقاتی استان‌های گیلان، مازندران و تهران مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به اینکه جانوران کامل لیسک *A. agrestis* وزن تقریبی ۰/۵ تا ۱ گرم دارند (Zotin, 2007)، بر اساس آزمایش‌های متعدد انجام شده و مشاهده عکس‌العمل لیسک‌های با وزن ۰/۱ ± ۰/۶ گرم به غلظت ده برابر LC_{50} ترکیبات نیمارین® (۱٪ EC) و چریش (۱/۲۸٪ EC)، از این غلظت در آزمایش گلخانه استفاده شد. همچنین، میزان مصرف سم متالدئید ۲۵ کیلوگرم در هکتار بر اساس میزان توصیه شده در فهرست سموم مجاز کشور بود.

آزمایش در شرایط گلخانه در قطعات ۱۰ مترمربعی به فواصل سه متر از یکدیگر با ۴ تکرار ۲/۵ مترمربعی انجام شد. هر تکرار آزمایش، قسمتی از گلخانه به مساحت ۲/۵ متر مربع بود که برای جلوگیری از تداخل لیسک‌ها (به دلیل حرکت آن‌ها) از توری‌های سیمی استفاده شد. تعداد ۹ بوته در هر تکرار و در مجموع ۱۸۰ بوته در نظر گرفته شد. بوته‌ها با هر ترکیب توسط سمپاش پشتی کالیبره شده به طوری‌که سطوح بالایی و پایینی آن‌ها به طور کامل به ترکیب سمی آغشته شود، محلول‌پاشی شدند. بعد از خشک شدن سطوح برگ‌ها در مدت زمان حدود ۳۰ دقیقه، در هر تیمار تعداد ۶۰ عدد لیسک هم‌سن (در کل ۳۶۰ عدد لیسک) روی گیاهان زینتی اسپاتیفیلوم رهاسازی شد. به منظور جلوگیری از خروج لیسک‌ها و یا تداخل آن‌ها با قطعات دیگر، هر قطعه به طور کامل (از تمام سطوح) با تور پلاستیکی محکم محصور شده بود. شمارش تعداد لیسک‌های زنده یک روز قبل و ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰ و ۱۵ روز پس از زمان اعمال تیمارها انجام گرفت. درصد تلفات از فرمول هندرسون -تیلتون محاسبه شد. داده-های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS تجزیه و تحلیل و در نهایت تیمارها با استفاده از آزمون دانکن مورد مقایسه آماری قرار گرفته و گروه‌بندی شدند. برای اندازه-گیری سطح خسارت برگ در هر تیمار با استفاده از دستگاه سطح‌سنج برگ (مدل Delta-T Devices LTD, UK)، ابتدا میانگین درصد سطح سالم و خسارت دیده برای یک برگ در هر تیمار محاسبه شد. آن‌گاه با در نظر گرفتن سطح کل برگ (سطح سالم+ سطح خسارت دیده)، درصد خسارت برگ تعیین شد.

نتایج

آزمایش‌های زیست‌سنجی

بر اساس نتایج آزمایش‌های زیست‌سنجی، مقادیر LC_{50} برای فرمولاسیون‌های EC چریش (۱/۲۸٪) و نیمارین® (۱٪) به ترتیب برابر با ۳۴/۱ و ۲۲/۵ در هزار برآورد شد (جدول ۱).

www.SID.ir

Archive of SID

اگر چه از نظر مقدار، LC_{50} در چریش در مقایسه با نیمارین® بیش‌تر است، بررسی حدود اطمینان‌های مربوطه نشان داد که بین دو ترکیب اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. فرضیه موازی بودن خطوط رگرسیون پس از بررسی با نرم افزار POLO-PC تایید شد. با توجه به تایید این نظریه و محاسبه سمیت نسبی، سمیت نیمارین® ۱/۵۹ برابر (محدوده اطمینان ۹۵ درصد (۱/۲-۰۷/۴۱)) چریش برآورد شد.

جدول ۱- برآورد LC_{50} و پارامترهای وابسته چریش (EC ٪۱/۲۸) و نیمارین® (EC ۱٪) روی لیسک *Agriolimax agrestis*

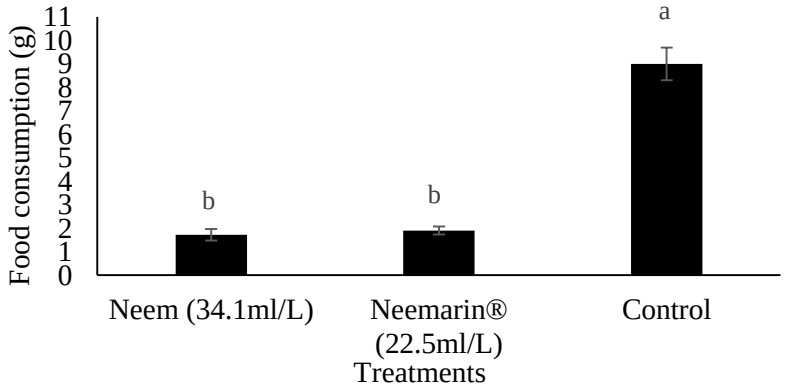
Table 1. Estimation of LC_{50} and related parameters of Neem (EC 1.28%) and Neemarin (EC 1%) on *Agriolimax agrestis*

Treatments	N*	Df	LC_{50} (ml/L) (Confidence limits 95%)	Slope ± SE	Chi-square
Neem	240	3	34.1 (25.7 ± 56.9)	1.75 ± 0.44	1.36
Neemarin®	240	3	22.5 (16.3 ± 37.1)	1.54 ± 0.35	2.61

*N= Total number of tested slugs

The numbers in the columns with different letters indicate significant difference (Duncan, $p \leq 0.05$)

میانگین تغذیه لیسک‌ها روی برگ‌های تیمار شده در غلظت‌های ۳۴/۱ و ۲۲/۵ در هزار چریش (EC ٪۱/۲۸) و نیمارین® (EC ۱٪) از نظر آماری اختلاف معنی‌داری در مقایسه با شاهد نشان داد ($F_{2,9} = 88.5$; $P < 0.0001$). میانگین تغذیه لیسک‌ها از برگ‌های تیمار شده با ترکیبات چریش (EC ٪۱/۲۸) و نیمارین® (EC ۱٪) کمتر از ۲ گرم در مقایسه با شاهد (۹ گرم) بود (شکل ۱).



Different letters indicate significant difference (Duncan, $p \leq 0.05$)

شکل ۱- میانگین تغذیه لیسک *Agriolimax agrestis* (گرم) تا ۱۴ روز پس از تیمار برگ‌های گیاه زینتی اسپاتیفیلوم با مقادیر LC_{50} ترکیبات چریش (EC ٪۱/۲۸) و نیمارین® (EC ۱٪) در مقایسه با شاهد در شرایط آزمایشگاهی (تعداد لیسک‌های آزمایش شده در هر تیمار= ۴۰ عدد)

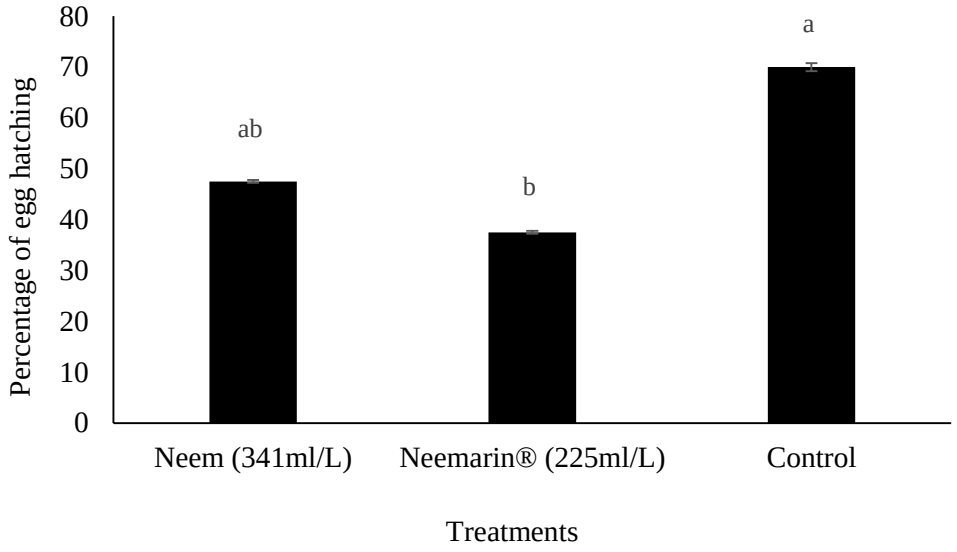
Figure 1. The mean feeding of *Agriolimax agrestis* (g) 14 days after treatment of the leaves of the ornamental plant *Spathiphyllum* with LC_{50} values of Neem (EC 1.28%) and Neemarin® (EC 1%) compounds compared with control in laboratory conditions (number of tested slugs per treatment= 40)

www.SID.ir

Archive of SID

کارایی ترکیبات روی تخم لیسک *A. agrestis*

نتایج درصد تفریخ تخم‌های لیسک *A. agrestis* نشان می‌دهد که وقتی تخم‌های لیسک با مقادیر LC_{50} دو ترکیب چریش و نیمارین® تیمار شد، میانگین تفریخ تخم‌های لیسک، اختلاف معنی‌داری در مقایسه با شاهد نشان داد، ولی غلظت‌های مشابه چریش اختلاف معنی‌داری با نیمارین® نشان ندادند ($F = 12.29, df = 2,9, p= 0.0027$) (شکل ۲). در مجموع، نتایج بیانگر آن است که درصد تفریخ تخم‌ها با به کارگیری چریش و نیمارین® در مقایسه با شاهد کاهش می‌یابد و چریش و نیمارین® تقریباً اثر مشابهی روی میزان درصد تفریخ تخم‌های لیسک گونه *A. agrestis* داشته‌اند.



Different letters indicate significant difference (Duncan, $p \leq 0.05$)

شکل ۲–میانگین تفریخ تخم لیسک *Agriolimax agrestis* در تیمار با ترکیبات چریش (EC ٪۱/۲۸) و نیمارین® (EC ۱٪) در مقایسه با شاهد در شرایط آزمایشگاهی (تعداد لیسک‌های آزمایش شده در هر تیمار= ۴۰ عدد)

Figure 2. Mean hatching of *Agriolimax agrestis* egg in treatment with Neem (EC 1.28%) and Neemarin® (EC 1%) compounds in comparison in laboratory conditions (number of tested slugs per treatment=40)

نتایج آزمایش گلخانه‌ای

تجزیه واریانس مرکب در سه منطقه مورد آزمایش شامل گیلان، مازندران و تهران نشان داد که اثر تیمار و مکان معنی‌دار است ولی اثر متقابل مکان در تیمار معنی‌دار نیست. این احتمال می‌رود اختلاف بین مناطق، بیشتر تحت تاثیر تغییرات وزن لیسک‌های آزمایش شده باشد. با توجه به نحوه اثر ترکیبات چریش (EC ٪۱/۲۸) و نیمارین® (EC ۱٪) در توقف تغذیه و یا کاهش آن و در ادامه تلفات، متفاوت بودن جثه جانوران آزمایش شده در مناطق مختلف می‌تواند عکس‌العمل متفاوت آن را نسبت به ترکیبات مذکور موجب شود. با توجه به معنی‌دار بودن اختلاف بین تیمارها و مکان‌ها، داده‌ها بر پایه طرح کاملاً تصادفی در هر استان به طور جداگانه مورد بررسی قرار گرفت.

در استان مازندران، میانگین درصد تلفات لیسک‌ها اختلاف معنی‌داری را در تمام روزهای پس از تیمار نشان داد (جدول ۲). با افزایش زمان، بر تعداد تلفات لیسک‌ها در همه تیمارها افزوده شد (جدول ۳). دو روز پس از اعمال تیمارها، متالدئید (۲۵ کیلوگرم در هکتار) بیشترین (۱/۶ ± ۳۷/۲) و چریش کم‌ترین (۱/۳ ± ۳/۳) درصد کارایی را روی لیسک‌ها نشان دادند. تیمارهای چریش و نیمارین® در یک گروه و

www.SID.ir

Archive of SID

متالدئید در گروه جداگانه قرار گرفتند. کاربرد مقادیر دو ترکیب چریش و نیمارین® نسبت به کاربرد متالدئید در دز توصیه شده، کارایی کم‌تری در کنترل لیسک‌ها در تمام روزهای پس از تیمار نشان دادند، به طوری‌که ۱۵ روز پس از اعمال تیمارها، متالدئید با میانگین کارایی ۱/۳ ± ۹۱/۴ درصد نسبت به دو ترکیب دیگر مؤثرتر واقع شد. همچنین، چریش و نیمارین® در مقادیر به کار برده شده در تمام روزهای پس از تیمار، از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری در کنترل لیسک‌ها نداشتند. ۱۵ روز پس از تیمار، مرگ و میر لیسک‌ها با تغذیه از برگ‌های تیمار شده با دو ترکیب مذکورکم‌تر از ۵۰ درصد بود.

جدول ۲- تجزیه واریانس کارایی چریش (۱/۲۸٪ EC)، نیمارین® (۱٪ EC) و متالدئید روی لیسک *Agriolimax agrestis* پس از تیمار در گلخانه مازندران

Table 2. Analysis of variance of the efficacy of Neem (EC 1.28%), Neemarin® (EC 1%) and Metaldehyde on *Agriolimax agrestis* after treatment in Mazandaran greenhouse

Variation Resources	df	MS					
		2	4	6	8	10	15
Treatment	2	1463.1	1451.6	1571.1	3007.2	2962.7	2959.3
Error	9	10.01	18.96	26.9	52.2	24.8	55.1
CV*	-	20.8	20.3	18.08	19.34	10.8	12.3
F	-	146.06	76.53	58.28	57.54	119.42	53.7
P	-	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001

*Coefficient of Variation

The numbers in the columns with different letters indicate significant difference (Duncan, $p \leq 0.05$)

جدول ۳- مقایسه میانگین کارایی (± خطای معیار) ترکیبات چریش (۱/۲۸٪ EC)، نیمارین® (۱٪ EC) و متالدئید روی لیسک *Agriolimax agrestis* پس از تیمار در گلخانه مازندران

Table 3. Comparison of mean efficiency (Percentage ± Standard error) of Neem (EC 1.28%), Neemarin® (EC 1%) and Metaldehyde compounds on *Agriolimax agrestis* after treatment in Mazandaran greenhouse

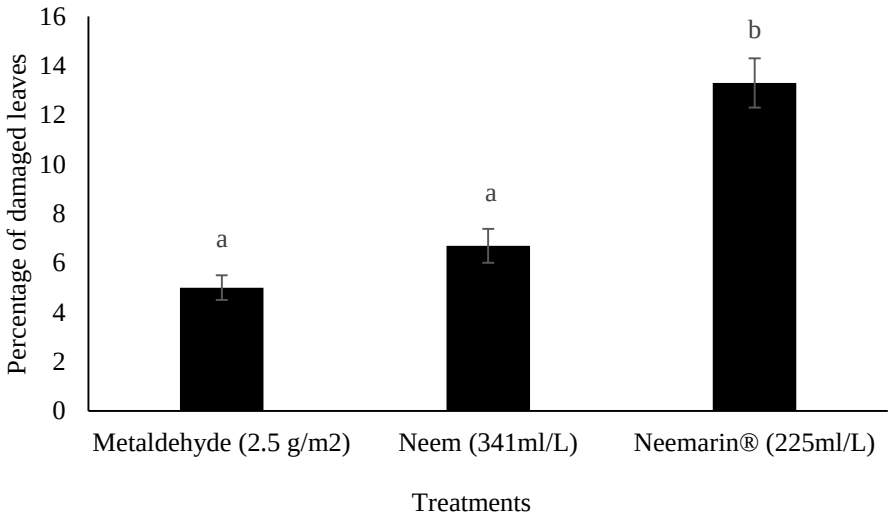
Treatments	Mean efficacy (%) days after application ± SE					
	2	4	6	8	10	15
Neemarin® (225ml/L)	5.0±1.6^{b}	16.3±1.9^{b}	23.4±3.2^{b}	26.2±3.3^{b}	38.7±1.8^{b}	47.9±2.0^{b}
Neem (341ml/L)	3.3±1.3^{b}	5.3±1.7^{b}	12±2.0^{b}	17.2±2.4^{b}	23.3±2.7^{b}	41.4±1.6^{b}
Metaldehyde ($2.5g/m^2$)	37.2±1.6^{a}	42.4±2.7^{a}	50.6±2.4^{a}	68.5±3.3^{a}	76.2±2.7^{a}	91.4±1.3^{a}

The numbers in the columns with different letters indicate significant difference (Duncan, $p \leq 0.05$)

در شرایط گلخانه، میانگین تعداد برگ‌های آسیب‌دیده توسط لیسک‌ها از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری در بین تیمارهای چریش (۱/۲۸٪ EC)، نیمارین® (۱٪ EC) و متالدئید داشت ($F_{2,9} = 53.7$; $p < 0.0001$). درصد برگ‌های خسارت دیده توسط لیسک در تیمار متالدئید و چریش از لحاظ آماری در یک گروه قرار داشته و تیمار نیمارین® با اختلاف از این دو تیمار طبقه‌بندی شد (شکل ۳). بر اساس مشاهدات، تغذیه لیسک‌ها در هر سه تیمار مذکور ناچیز بوده و به خسارت قابل توجهی منجر نشده است؛ در حالی که در تیمار شاهد، میزان تغذیه و خسارت در حدود پنج برابر افزایش داشته است.

www.SID.ir

Archive of SID



Different letters indicate significant difference (Duncan, $p \leq 0.05$)

شکل۳- میانگین درصد برگ‌های آسیب دیده گیاه اسپاتیفیلوم تیمار شده با چریش (۱/۲۸٪ EC)، نیمارین® (۱٪ EC) و متالدئید توسط لیسک *Agriolimax agrestis* تا ۱۵ روز پس از تیمار در شرایط گلخانه

Figure 3. Mean percentage of damaged leaves of Neem (EC 1.28%), Neemarin® (EC 1%) and Metaldehyde treated *Spathiphyllum* by *Agriolimax agrestis* up to 15 days after treatment in greenhouse conditions

در استان گیلان، میانگین درصد تلفات لیسک‌ها در فواصل زمانی پس از تیمار نشان داد که به جز ششمین روز در بقیه روزهای آماربرداری، در سطح یک درصد اختلاف معنی‌دار وجود دارد (جدول ۴). بر اساس نتایج، با افزایش زمان، بر تعداد تلفات لیسک‌ها در همه تیمارها افزوده شد (جدول ۵). کاربرد مقادیر LC_{50} دو ترکیب چریش (۱/۲۸٪ EC) و نیمارین® (۱٪ EC) نسبت به کاربرد متالدئید در دز توصیه شده کارایی کم‌تری در کنترل لیسک‌ها در تمام روزهای پس از تیمار نشان دادند. مقایسه میانگین تیمارها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در جدول ۸ نشان می‌دهد که در ۱۵ روز پس از اعمال تیمارها، متالدئید با میانگین کارایی ۲/۵ ± ۹۶/۵ درصد نسبت به دو ترکیب دیگر مؤثرتر واقع شد. همچنین، چریش (۱/۲۸٪ EC) و نیمارین® (۱٪ EC) در مقادیر به کار برده شده ۴، ۶، ۸ و ۱۵ روز پس از تیمار از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری در کنترل لیسک‌ها نداشتند. ترکیبات چریش (۱/۲۸٪ EC) و نیمارین® (۱٪ EC) علاوه بر داشتن بیش‌ترین درصد تلفات، بعد از ۱۵ روز در یک گروه آماری قرار گرفتند و تیمار متالدئید در گروه متفاوتی قرار گرفت.

در استان تهران، تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که کارایی ترکیبات در نوبت‌های نمونه‌برداری بعد از تیمار دارای اختلاف معنی‌دار بود (جدول ۶). ۴، ۶، ۸ ، ۱۰ و ۱۵ روز بعد از تیمار، ترکیبات چریش و نیمارین®در یک گروه آماری قرار گرفتند که نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بین آن‌ها می‌باشد. با افزایش زمان، بر تعداد تلفات لیسک‌ها در همه تیمارها افزوده شد (جدول ۷). کاربرد مقادیر دو ترکیب چریش و نیمارین® نسبت به کاربرد متالدئید در دز توصیه شده کارایی کمتری در کنترل لیسک‌ها در تمام روزهای پس از تیمار نشان دادند. در ۱۵ روز پس از سم‌پاشی، بالاترین تاثیر بر روی جمعیت لیسک‌ها برای تیمار متالدئید با میانگین کارایی۲/۳۷ ± ۹۷/۶۲ ثبت شد. در این زمان تاثیر تمامی تیمارها، نسبت به زمان ده روز پس از سم‌پاشی افزایش یافت و تلفات لیسک‌ها با تغذیه از برگ‌های تیمار شده با دو ترکیب چریش و نیمارین® در حدود ۵۰ درصد ثبت شد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۴- تجزیه واریانس کارایی ترکیبات چریش (۱٪/۲۸ EC)، نیمارین® (۱٪ EC) و متالدئید روی لیسک *Agriolimax agrestis* پس از تیمار در گلخانه گیلان

Table 4. Analysis of variance of the efficacy of Neem (EC 1.28%), Neemarin® (EC 1%) and Metaldehyde compounds on *Agriolimax agrestis* after treatment in Guilan greenhouse

Variation Resources	Df	MS					
		2 th	4 th	6 th	8 th	10 th	15 th
Treatment	2	668.81	674.13	553.52	1547.77	2407.56	2497.14
Error	9	15.80	16.43	111.44	57.35	45.32	17.32
CV*	-	19.66	11.96	24.70	14.69	11.29	6.15
F		42.31	41.03	4.97	26.99	53.12	144.14
P		<0.0001	<0.0001	0.035	0.0002	<0.0001	<0.0001

*Coefficient of Variation

The numbers in the columns with different letters indicate significant difference (Duncan, $p \leq 0.05$)

جدول ۵- مقایسه میانگین کارایی (± خطای معیار) ترکیبات چریش (۱٪/۲۸ EC)، نیمارین® (۱٪ EC) و متالدئید روی لیسک *Agriolimax agrestis* در روزهای پس از تیمار در گلخانه گیلان

Table 5. Comparison of mean efficiency (±Standard error) of Neem (EC 1.28%), Neemarin® (EC 1%) and Metaldehyde compounds on *Agriolimax agrestis* in the days after treatment in Guilan greenhouse

Treatments	Mean efficacy (%) days after application ± SE					
	2	4	6	8	10	15
Neemarin® (225 ml/L)	18.0 ± 2.1^{b}	25.5 ± 2.1^{b}	35.9 ± 4.1^{a}	40.6 ± 0.6^{b}	42.6 ± 2.6^{b}	54.1 ± 2.8^{b}
Neem (341ml/L)	8.5 ± 2.1^{c}	27.2 ± 2.0^{b}	35.0 ± 4.0^{a}	39.7 ± 2.2^{b}	48.5 ± 4.2^{b}	52.3 ± 2.6^{b}
Metaldehyde2.5 (g/m^2)	34.1 ± 1.6^{a}	48.8 ± 1.8^{a}	56.3 ± 6.9^{a}	74.2 ± 6.2^{a}	87.7 ± 4.6^{a}	96.5 ± 2.5^{a}

The numbers in the columns with different letters indicate significant difference (Duncan, $p \leq 0.05$)

جدول ۶- تجزیه واریانس کارایی ترکیبات چریش (۱٪/۲۸ EC)، نیمارین® (۱٪ EC) و متالدئید روی لیسک *Agriolimax agrestis* پس از تیمار در گلخانه تهران

Table 6. Analysis of variance of the efficacy of neem (EC 1.28%), Neemarin® (EC 1%) and Metaldehyde compounds on *Agriolimax agrestis* after treatment in Tehran greenhouse

Variation Resources	Df	MS					
		2 th	4 th	6 th	8 th	10 th	15 th
Treatment	2	620.59	818.30	766.56	1895.54	2724.35	2864.99
Error	9	13.44	17.69	80.19	34.14	33.66	9.52
CV*	-	18.40	12.19	20.33	11.01	9.52	4.62
F	-	46.17	46.25	9.56	55.52	80.92	300.71
P	-	<0.0001	<0.0001	0.005	<0.0001	<0.0001	<0.0001

*Coefficient of Variation

The numbers in the columns with different letters indicate significant difference (Duncan, $p \leq 0.05$)

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۷- مقایسه میانگین کارایی (± خطای معیار) ترکیبات چریش (EC ٪۱/۲۸)، نیمارین® (EC ۱٪) و متالدئید روی لیسک *Agriolimax agrestis* پس از تیمار در گلخانه در تهران

Table 7. Comparison of mean efficiency (±Standard error) of Neem (EC 1.28%), Neemarin® (EC 1%) and Metaldehyde compounds on *Agriolimax agrestis* after treatment in Tehran greenhouse

Treatments	Mean efficacy (%) days after application ± SE					
	2	4	6	8	10	15
Neemarin® (225 ml/L)	16.1 ± 2.6^{b}	22.1 ± 3.0^{b}	36.8 ± 4.3^{b}	41.8 ± 0.4^{b}	43.2 ± 2.4^{b}	52.8 ± 2.7^{b}
Neem (341ml/L)	9.7 ± 1.6^{c}	25.3 ± 1.7^{b}	36.0 ± 4.1^{b}	39.1 ± 2.0^{b}	48.6 ± 4.3^{b}	49.8 ± 2.7^{b}
Metaldehyde (2.5 g/m^2)	33.8 ± 1.4^{a}	50.9 ± 1.1^{a}	60.0 ± 6.4^{a}	78.1 ± 5.9^{a}	90.9 ± 4.7^{a}	97.6 ± 2.3^{a}

The numbers in the columns with different letters indicate significant difference (Duncan, $p \leq 0.05$)

بحث

با توجه به نتایج تحقیق حاضر، مقایسه خطوط رگرسیون غلظت –پاسخ نظریه موازی بودن خطوط را تأیید کرد که بر این اساس با محاسبه سمیت نسبی می‌توان مقایسه بهتری از سمیت دو ترکیب روی جانور آزمایش شده به‌دست آورد (Shakarami *et al*., 2014). بر این اساس، سمیت فرمولاسیون نیمارین®در شرایط آزمایشگاهی نسبت به ترکیب دیگر بیشتر بود.

بررسی میزان تغذیه لیسک‌ها روی برگ‌های تیمار شده با ترکیب‌های چریش و نیمارین® در شرایط آزمایشگاهی نشان-دهنده کاهش تغذیه در مقایسه با شاهد بود. این نتیجه نشان داد که ترکیبات مذکور روی تغذیه لیسک اثر گذاشته و میزان تغذیه آن را از برگ‌های تیمار شده کاهش دادند.

برای تعیین غلظت جهت انجام آزمایش گلخانه‌ای، با توجه به اینکه عکس‌العمل نسبت به ترکیبات چریش و نیمارین® به صورت اثر منفی روی تغذیه و زنده‌مانی، در لیسک‌ها با محدوده وزنی ۰/۱ ± ۰/۶ گرم مشاهده شد و این واکنش در غلظت ده برابر LC_{50} نسبت به غلظت‌های ۵ و یا ۷ برابر آن مشهودتر بود، بنابراین از این غلظت در شرایط گلخانه استفاده شد. تیمار برگ‌های اسپاتیفیلوم با غلظت یاد شده کاهش تغذیه چشمگیری ایجاد کرد، اما تلفات چندان قابل توجه نبوده و در مدت ۱۵ روز، به طور تقریبی نیمی از لیسک‌ها از بین رفتند. این نشان می‌دهد که در تیمارهای چریش و نیمارین® خاصیت ضدتغذیه، بیش‌تر از کشندگی مطرح است. نتیجه مشابهی توسط شعیب و همکاران (Shoaib *et al*., 2010) در بررسی ترکیب چریش (Nembicidine®) روی حلزون *M. obstructa* گزارش شد. این محققین دریافتند که ترکیب مذکور دارای خاصیت ضدتغذیه‌ای بوده و در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر به میزان ۱۰۰ درصد از تغذیه حلزون *M. obstructa* جلوگیری کرد. این پژوهشگران اعلام کردند که ترکیب چریش (Nembicidine®) قابلیت سمیت حاد نداشته و توقف تغذیه را موجب می‌شود. همچنین، مقایسه نتایج این بررسی با سموم متداول شیمیایی نشان داد چریش دارای توان کاهش خسارت به میزان ۷۵ درصد علیه حلزون *Oxyloma pfeifferi* Risso بود. از این رو، تاثیر مناسب چریش در کنترل تلفیقی نرم‌تنان درختان مرکبات در اسپانیا معرفی شد (Schuder *et al*., 2003). چریش با ایجاد نارسایی در حرکات لوله گوارش، بلوکه کردن گیرنده‌های تحریک غذا و یا تحریک گیرنده‌های بازدارنده و یا هر دوی این‌ها دارای خاصیت ضد تغذیه‌ای می‌باشد (Casy, 1994; Massaguni and Latip, 2012).

در تحقیق حاضر، نتایج درصد تفریخ تخم‌های لیسک *A. agrestis* نشان داد که وقتی تخم‌ها با دو ترکیب چریش و نیمارین® تیمار شدند، میانگین تفریخ بعد از تیمار با ترکیبات

www.SID.ir

Archive of SID

مذکور اختلاف معنی‌داری نشان نداد، اما در مقایسه با شاهد کاهش یافته و اختلاف معنی‌دار بود. بررسی‌ها روی میزان درصد تفریخ تخم‌ها در گونه‌های مختلف حلزون‌ها و لیسک-ها نتایج مختلفی را نشان داده است. شعیب و همکاران (Shoaib *et al*., 2010) نشان دادند که غلظت ده میلی لیتر بر لیتر ترکیب چریش (Nembicidine®) در شرایط آزمایشگاهی، موجب عدم تفریخ تمامی تخم‌های گونه *M. obstructa* شد. مقایسه میانگین داده‌ها در این آزمایش نشان داد که بین درصد تفریخ تخم‌ها در غلظت‌های مختلف چریش، در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری وجود دارد، به طوری که با افزایش غلظت، درصد تفریخ تخم‌ها کاهش یافت.

قابل ذکر است که در لیسک‌های با وزن یک گرم و بعضاً کمی بیشتر که در کلونی مشاهده شدند، به منظور بروز عکس‌العمل در جانور، بالا بردن غلظت ترکیبات چریش و نیمارین®، روی برگ‌های گیاه اسپاتیفیلوم به عنوان یک گیاه زینتی اثر گذاشته و طی بررسی‌های به عمل آمده لکه‌هایی در پهنک برگ ایجاد شد که احتمال شدت گرفتن این علائم با بالا رفتن دما در گلخانه نیز امکان دارد. پژوهشگران بیان کردند که در صورت استفاده از غلظت‌های چریش در دمای بالای ۳۰ درجه سلسیوس، بهتر است ابتدا قسمت کوچکی از گلخانه آزمایش شده و بعد از اطمینان از عدم وجود اثر سوء روی گیاه، از این ترکیب استفاده شود (Hosseininia *et al*., 2008).

آزمایش حاضر روی لیسک‌های *A. agrestis* در محدوده وزنی ۰/۱ تا ۰/۷ گرم که به ترکیبات چریش و نیمارین® واکنش نشان دادند، اجرا شد. بر اساس نتایج به‌دست آمده لیسک‌های جوان که جثه ریزتر و وزن کم‌تری داشتند، عکس‌العمل بیشتری به گیاهان تیمار شده نشان دادند. کاهش و یا عدم تغذیه به تدریج با از دست رفتن آب بدن جانور باعث مرگ و میر شد، به طوری‌که سیاه و خشک شدن بدن لیسک‌ها در پایان آزمایش مشاهده شد. اما هر چه وزن لیسک‌ها بیشتر شد، از کارایی ترکیبات یاد شده کاسته شد. بنابراین، زمان کاربرد این ترکیبات در میزان تاثیرگذاری آن‌ها اهمیت دارد.

در مجموع، با توجه به آزمایش‌های انجام شده و نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر، می‌توان از ترکیبات چریش و نیمارین® به ترتیب در محدوده غلظت‌های ۳۴/۱ و ۲۲/۵ در هزار تا ده برابر آن روی گیاه اسپاتیفیلوم استفاده کرد. ترکیبات مذکور روی لیسک‌های با وزن تقریبی زیر یک گرم (بر اساس محدوده وزنی آزمایش شده) به طور چشمگیری تغذیه را کاهش دادند. این وضعیت تا ۱۵ روز از کاربرد نیز پایدار بوده و به طور تقریبی نابودی نیمی از این جانوران را موجب شد. همچنین بر اساس نتایج، کاربرد متالدئید نسبت به ترکیبات مذکور نقش مؤثرتری در کنترل آفت داشت و در پایان آزمایش، تلفات قابل ملاحظه‌ای (بالای ۹۰ درصد) ایجاد کرد. در برنامه‌های مدیریت کنترل لیسک *A. agrestis* روی گیاه زینتی اسپاتیفیلوم پیشنهاد می‌شود که از ترکیبات چریش و نیمارین® در راستای کاهش مصرف سم شیمیایی متالدئید استفاده شود. کاربرد ترکیبات مذکور در گلخانه به خصوص زمانی‌که بیشتر جمعیت فعال در آن محیط را جانورانی تشکیل می‌دهند که در اوایل مرحله رشدی قرار داشته و تغذیه پایین-تری دارند، توصیه می‌شود. در این‌صورت، تیمار برگ‌های اسپاتیفیلوم با غلظت‌های مناسب از ترکیبات مذکور می‌تواند از تغذیه جدی لیسک‌ها روی گیاه جلوگیری نموده و خسارت را به حداقل رساند. اما برای افزایش تلفات، پیشنهاد می‌شود در صورت امکان با استفاده از ترکیبات یا مواد افزودنی به فرمولاسیون چریش (با توجه به اینکه این ترکیب غیرتجاری است) بتوان خاصیت کشندگی آن را تقویت نمود. نداشتن اثر کشندگی سریع از جمله ایراداتی است که در مورد ترکیب چریش گزارش شده است (Heravi *et al*., 2009) و نیاز به بررسی‌های بیشتر در این زمینه احساس می‌شود.

www.SID.ir

Archive of SID

سپاسگزاری

از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان‌های مازندران و گیلان به جهت همکاری در اجرای پروژه، مدیریت محترم موسسهٔ تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور (به جهت پشتیبانی و تأمین هزینه‌های اجرای پروژه) و از خانم دکتر Ploomi از Estonian University of Life Sciences, 1 Kreutzwaldi St., 51014 Tartu, Estonia و نیز از آقای دکتر Ebenso از Department of Animal Science, University of Uyo, PMB 1017, Uyo, Nigeria به خاطر مشاوره‌های فنی و ارسال برخی منابع تشکر و قدردانی می‌نماییم.

References

Ahmadi, E. 2009. An investigation on effectiveness of Iron Phosphate against *Deroceras agreste* in lettuce fields of Mazandaran and Tehran provinces. **Plant Protection Journal** 1(4): 419- 428. (in Farsi)

Ahmadi, E. 2010. Investigation on efficacy of different baits against *Agriolimax agrestis* on *Spathiphyllum wallisii* plants in greenhouses. **Iranian Journal of Dynamic Agriculture** 6(3):315-322. (in Farsi)

Anoop, K., Sunil, Z., Amit, K. M. and Vinny, J. 2019. Effect of fungicides and neem oil on the *Rhizoctonia* root rot of soybean (*Glycine max* L.). **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences** 8(1): 368-372.

Barker, G. M. 2002. Molluscs as crop pests. CABI Publishing. Pp. 468.

Bolandnazar, A., Ghadamyari, M., Memarzadeh, M. and Jalali, S. 2017. Effect of some micro and nanoemulsified essential oils and plant extract on sweet potato whitefly, *Bemisia tabaci* (Gennadius), under laboratory condition. **Plant Pest Research** 7(3): 23-37. (in Farsi)

Casy, S. 1994. Neem mode of action of compounds present in extracts and formulations of *Azadirachta indica* seeds and their efficacy to pests of ornamental plants and non-target species. http://www.colostate.edu/entomology/courses/en570/papers-1994/aclar.html.

Ebenso, I.E. 2009. Molluscicidal effects of neem (*Azadirachta indica*) extracts on edible tropical land snails. **Pest Management Science** 60:178-182.

HeidaryAlizadeh, B., Heidari, A. and Modaresnajafabadi, S. S. 2017. Preparation of emulsifiable concentrate (EC 1.28%) formulation based on neem seed extract, (*Azadirachta indica*) and investigating its efficacy on green peach aphid (*Myzus persicae*). **Journal of Entomology and Phytopathology** 84(2): 279-290. (in Farsi)

Heravi, P., Talebi jahromi, K. H., Sabahi, G. H. and Bandani, A. 2009. Deterrent, antifeedant and lethal effects of methanolic extract of neem seed kernel on cotton boll worm, *Helicoverpa armigera* (Hubner), in comparison with twoc ommercial products (Neem Azal and Neem Plus). **Journal of Water and Soil Science** 13(47):243-253. (in Farsi)

Hollingsworth, R. G. and Armstrong, J. W. 2008. Effectiveness of products containing metaldehyde, copper of extracts of yucca or neem for control of *Zonitoides arboreus* (Say), a snail pest of orchid roots in Hawaii**. International Journal of Pest Management** 49(2): 115-122.

Hosseininia, A., Edrisi, B., Etaati, M. and Kazemi Siahouei, Gh. R. 2008. Simultaneous control of Rose powdery mildew and Rose spider mites by neem (*Azadirachta indica* ADR. JUSS) seed oil, sulfur and dinocap. **Pajouhesh Va Sazandegi in Agronomy and Horticulture** 21 (1): 34 - 40. (in Farsi)

Iglesias, J., Castillejo, J. and Ester, A. 2009. Laboratory evaluation of potential molluscicides for the control of eggs of the pest slug *Deroceras reticulatum* (Müller) (Pulmonata: Limacidae). **International Journal of Pest Management** 48:19–23.

Isman, M. B. 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology** 51 (1): 45–66.

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

www.SID.ir

Archive of SID

Khater, H. F. 2012. Prospects of botanical biopesticides in insect pest management. **Pharmacologia** 3(12): 641-656.

Leora Software. 1987. POLO-PC: A user guide to probit or logit 786 analysis. Leora software, Berkeley, California.

Massaguni, R. and Latip, S. N. H. M. 2012. Neem crude extract as potential biopesticide for controlling golden apple snail, *Pomacea canaliculata*. In Soundararajan, R.P. (Eds.). Pesticides. Advances in Chemical and Botanical Pesticides, InTech, Rijeka, Croatia. pp. 233-254.

Mirzaei, A. 1972. Molluscs of agricultural importance in Iran. Ministry of Agriculture Resources Plant Pests and Diseases Research Institute. pp. 68.

Modarres Najafabadi, S. S. 2010. Evaluate effects of *Azadirachta indica* Adr. Juss. leaf powder and *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. seed and leaf powder on stored product pests (*Trogoderma granarium* and *Tribolium* sp.) of wheat and barley. **Iranian Journal of Medicinal and Aromatic plants** 25(4): 513-527.

National Research Councile. 1992. Neem: A tree for solving global problems. Washington, DC: The National Academies Press. https://doi.org/10.17226/1924.

Namvar, P., Safaralizadeh, M. H. and Baniameri, V. 2011. Effect of commercial neem extract neemazal-T/S on controlling leafminer *Liriomyza sativae* Blanchard (Diptera: Agromyzidae) in comparison with common synthetic insecticide. **Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture** 2 (7): 89-96.

Noorbakhsh, S., Sahraeian, H., Soroush, M., Rezaei, V. and Fotoohi, A. 2011. List of important pests, diseases and weeds of agricultural products, pesticides and recommended methods to control them. Agricultural Research Education and Extention Organization. pp. 197. (in Farsi)

Ploomi, A., Kogar, K., Metspalu, L. and Hiiessar, K. 2009. The toxicity of neem to the snail *Arianta arbustorum*. Scientific works of the lithvanian institute of the horticulture and Lithvanian University of the Agriculture. Sodininkyste Ir Darzininkyste 28(3):153-158.

Rastegari, S., Alichi, M., Samih, M.A., Minaei, K. and Saharkhiz, J. 2016. Toxicity effect of henna, *Lawsonia inermis* L. and madder *Rubia tinctorum* L. extracts on *Rhopalosiphum padi* L. versus pesticidal effect of pirimicarb and imidacloprid. **Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)** 38(4): 55-67. (in Farsi)

Robertson, J. L. and Preisler, H. K. 1992. *Pesticide bioassays with arthropods*. 127 pp. CRC Press, Boca Raton, Florida.

Sadeghi, A. 1996. Sensitivity of *Bemisia tabaci* to chemical toxins and neem and investigation of its behavioral properties to neem and colored traps. Master thesis. Urmia University.

Salahi Ardakani, A. and Hoseininejad Seied, A. 2012. Application yarrow, bead-tree and neem in control root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. **Plant Pathology Science** 1(1):14-26.

Schuder, I., Port, G. and Bennison, J. 2003. Barriers repellents and antifeedants for slug and snail control. **Crop Protection** 22:1033-1038.

Shakarami, S., Heidari, A. and Arbabi, M. 2014. Efficacy of the EC 1.28% formulation of Neem, *Azadirachta indica*, on two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae), in laboratory and field conditions. **Journal of Entomological Society of Iran** 34 (1): 85-93. (in Farsi)

Shoaib, M. A., Mahmoud, M. A., Loutfy, N. and Tawfic, M. 2010. Effect of botanical insecticide Nimbecidine® on food consumption and egg hatchability of the terrestrial snail *Monacha obstructa*. **Journal of Pest Science** 83(1): 27–32.

Singh K. and Singh, D. K. 2000. Effect of different combinations of MGK-264 or piperonyl butoxide with plant-derived molluscicides on snail reproduction. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology** 38: 182–190.

Taghizadeh Saroukolai, A., Janparvar, M. and Nouri Ganbalani, G. 2017. Plant materials as an appropriate replacement for reducing environmental risk of using chemical insecticides (Case study colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* (Say)). **Journal of Agroecology** 9(2): 379-388. (in Farsi)

www.SID.ir

Archive of SID

Tirgari, S., Ghafari, D. and Mousavi Eyvanaki, E. 2006. Repellency effect of neem oil (*Azadirachta indica* Juss) against paederus beetles, the agent of linear dermatitis (Col: Staphylinidae). **Modares Journal of Medical Sciences (Pathobiology)** 9(1): 45-51.

Verkerk, R. H. J. and Wright, D. J. 1993. Biological activity of neem seed kernel extracts and synthetic azadirachtin against larve of *Plutella xylostella*. **Pesticide Science** 37:83-89.

Zotin, A. A. 2007. Patterns of individual growth of gray garden slugs *Deroceras reticulatum.* **Biology Bulletin** 34: 457-462.

www.SID.ir

Archive of SID

Plant Pest Research
2020- 10(3): 61-76

Research paper

Efficacy of the EC formulations of Neem (1.28%) and Neemarin® (1%) on slug *Agriolimax agrestis* in laboratory and greenhouse conditions

E. Ahmadi [1*], M. GholamzadehChitgar [2], Z. Mojib Hagh Ghadam [3] and A. Heidari [4]

1. Agricultural Zoology Research Department, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran, 2. Plant Protection Research Department, Mazandaran Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Sari, Iran, 3. Plant Protection Research Department, Gilan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Rasht, Iran, 4. Pesticides Research Department, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.

(Received: August 9, 2020- Accepted: October 24, 2020)

Abstract

The effect of new formulations of Neem, Neemarin® and metaldehyde on slug, *A. agrestis* was evaluated in laboratory and greenhouse conditions. In bioassay experiments, the leaves of the ornamental plant (*Spathiphyllum wallisii* Regel) were dipped in different concentrations of neem and Neemarin®, and then same-age immature slugs were released on the leaves and their mortality and feeding were determined up to 14 days. The LC_{50} values for Neem and Neemarin® were estimated 34.1 and 22.5 ml/lit, respectively, and relative toxicity of Neemarin® was 1.59 times of /more than Neem. The greenhouse experiments were conducted in RCD with 4 treatments, and the maximum effect of the treatments was obtained for metaldehyde with a mean of 95.75% after 15 days compared to the Neem and Neemarin® with 47.85% and 51.63% mean mortality, respectively. Also, the effect of Neem and Neemarin® on the nutrition was 1.72 g and 1.9 g, respectively, in comparison with control (9 g) and the percentage of egg hatching significantly decreased compared to the control. According to the results, Neem and Neemarin® compounds in the concentrations 34.1 and 22.5 per thousand, respectively, and up to ten times on leaves of *S. wallisii* had a negative effect on the nutrition of *A. agrestis* and reduced the damage in greenhouse conditions. This effect with increasing age and body size of the slug and subsequent increase in concentration was maintained. However, they were less lethal than methaldehyde.

Key words: *Agriolimax agrestis*, Neem, Neemarin®, Metaldehyde

*Corresponding athour: e1_ahmadi@yahoo.com

www.SID.ir