Archive of SID

تحقیقات آفات گیاهی
۵۰-۳۹ :(۴) ۵- ۱۳۹۴

تاثیر ترکیبی اسانس پوست پرتقال با دو کنه‌کش شیمیایی اسپیرودیکلوفن و پروپارژیت علیه ماده‌های بالغ کنه تارتن دولکه‌ای *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae)

سید ابراهیم شفیعی[۱]، خلیل طالبی جهرمی*[۱] و قدرت الله صباحی[۱]

۱- گروه حشره‌شناسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج.

(تاریخ دریافت: ۹۴/۳/۳ تاریخ پذیرش: ۹۴/۹/۳۰)

چکیده

در سال های اخیر استفاده از اسانس‌های گیاهی به عنوان ترکیبات طبیعی برای حفاظت از محصولات و کاهش آلودگی‌های زیست‌محیطی مورد توجه قرار گرفته است. در تحقیق حاضر سمیت تنفسی و تماسی اسانس پوست پرتقال *Citrus sinensis* و اثر تماسی مخلوط اسانس با دو کنه‌کش اسپیرودیکلوفن و پروپارژیت علیه ماده‌های کنه تارتن دولکه‌ای *Tetranychusurticae* مورد بررسی قرار گرفت. اسانس‌گیری از پوست تازه پرتقال دزفول به روش تقطیر با بخار آب انجام شد. مقادیر غلظت کشنده متوسط ($LC_{۵۰}$) اسانس پوست پرتقال در حالت تنفسی و تماسی به‌ترتیب ۴۸/۷۵ میکرولیتر بر لیتر هوا و ۱۱/۴۸ میکروگرم بر سانتی‌متر مربع برآورد شد. مقایسه سمیت تماسی اسانس با دو ترکیب شیمیایی نشان داد که *T. urticae* به اسپیرودیکلوفن ($LC_{۵۰}$ برابر با ۲/۷۶میکروگرم بر سانتی‌متر مربع) نسبت به اسانس حساس‌تر است، در حالی که پروپارژیت ($LC_{۵۰}$ برابر با ۲۸/۵۱ میکروگرم بر سانتی‌متر مربع) کارایی کمتری داشت. همچنین تلفات مخلوط دزهای $LC_{۲۵}$ اسانس پوست پرتقال و پروپارژیت در مقایسه با تلفات مورد انتظار مجموع آن‌ها (۵۰٪)، ۴۵ درصد و در مورد مخلوط اسانس با اسپیرودیکلوفن ۹۶/۶۶ درصد بود. بر اساس عامل Cotoxicity coefficient (CTC)، مخلوط اسانس پوست پرتقال با پروپارژیت و اسپیرودیکلوفن به‌ترتیب، اثر آنتاگونیستی و سینرژیستی نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: اسانس پوست پرتقال، اسپیرودیکلوفن، پروپارژیت، کنه تارتن دولکه‌ای، سینرژیست

*نویسنده مسئول: khtalebi@ut.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

تاثیر نامطلوب آفت‌کش‌های شیمیایی روی انسان و محیط زیست و نیز بروز مقاومت در آفات، استفاده از این ترکیبات را در کنترل آفات با چالش‌های جدی مواجه ساخته است. یکی از نتایج نامطلوب کاربرد آفت‌کش‌های شیمیایی، طغیان آفات ثانویه مثل کنه‌های گیاهی می‌باشد. کنه تارتن دو لکه‌ای *Tetranychus urtica* Koch (Acari: Tetranychidae) یکی از آفات مهم و کلیدی است که در سال‌های اخیر به عنوان مقاوم‌ترین آفت در برابر آفت‌کش‌ها شناخته شده است (James & Price, 2002). این آفت انتشار جهانی داشته و یکی از چندین خوارترین آفات محصولات کشاورزی در جهان می‌باشد. به طوری که بیش از ۱۰۰۰ گونه میزبان در یکصد خانواده گیاهی از جمله سبزی، صیفی، زینتی، زراعی و درختان دارد (van Leeuwen *et al*., 2010).کنه تارتن دولکه‌ای با مکیدن شیره گیاهی و از بین بردن سلول‌های گیاهی باعث آسیب رساندن به برگ و با تنیدن تار مانع از عمل تعرق و فتوسنتز در گیاه می‌شود که در نهایت کاهش عملکرد را به دنبال خواهد داشت (Huffaker *et al*., 1969). این کنه به دلیل طول دوره رشد کوتاه، تولید مثل و زادآوری بالا، قادر است به سرعت در برابر کنه‌کش‌ها مقاوم شود (van Leeuwen*et al*., 2010). بروز مقاومت در گونه‌های مختلف بندپایان از یک طرف و تقاضا برای محصولات سالم و همین‌طور افزایش نگرانی‌ها در مورد سلامت کارگران از طرف دیگر، محققان را وادار کرده است که دیگر روشهای بالقوه و با خطرات کمتر را برای حفاظت محصولات گلخانه‌ای مورد ارزیابی قرار دهند. مقاومت کنه تارتن دولکه‌ای در مقابل این ترکیبات و بسیاری از ترکیبات شیمیایی دیگر لزوم استفاده از ترکیباتی که در کاهش مقاومت از طریق پدیده سینرژیستی موثرند را مشخص می‌سازد.

اسانس‌های گیاهی به عنوان یکی از منابع مهم در دست‌یابی به آفت‌کش‌های نوین با نحوه تاثیر متفاوت می‌باشند (Koul Walia *et al*., 2008). اسانس‌ها ترکیبات معطر و جزء متابولیت‌های ثانویه هستند که حاصل از تقطیر با بخار آب بوته‌ها و گیاهان دارویی می‌باشند (Hummelbrunner *et al*., 2001). این اسانس‌ها دارای ترکیبات فعال زیستی بوده و از لحاظ زیست‌محیطی قابل تجزیه هستند و به دلیل نحوه تاثیر خاص خود، روی پستانداران و ماهی‌ها تاثیر کمی دارند (Cavalcanti *et al*., 2010). درخت پرتقال گونه *Citrus sinensis* با اندازه متوسط از خانواده Rutaceae است. اسانس پوست پرتقال در صنعت عطر سازی کاربرد دارد و همین‌طور سمیت تنفسی و دور کنندگی آن علیه کنه تارتن دولکه‌ای به اثبات رسیده است (Araújo *et al*., 2010). عامل مهمی که کاربرد این ترکیبات را محدود کرده است، هزینه تولید آن‌ها می‌باشد، که این مسئله بستگی به در دسترس بودن گیاه و مقدار محصول در هکتار و نیز تهیه فرآورده موثر دارد (Cavalcanti *et al*., 2010). یکی دیگر از راه‌های مدیریت مقاومت آفات کاربرد مخلوط آفت‌کش‌هاست که به واسطه اثرات هم‌افزایی باعث کاهش میزان مصرف در هر بار سم‌پاشی می‌شود (Corbel *et al*., 2006). به‌تازگی بررسی‌هایی در رابطه با مخلوط اسانس‌ها با هم‌دیگر و همین‌طور با ترکیبات سنتزی انجام گرفته است که توانایی اثرات هم‌افزایی آن‌ها را اثبات می‌کند (Tong *et al*., 2013; Yi *et al*., 2012; Harve *et al*., 2004; Raghavendra*et al*., 2013; Shaalan *et al*., 2005). ترکیبات مورد نظر نحوه‌ی اثر متفاوت داشته، در نتیجه استفاده از مخلوط اسانس و آفت‌کش می‌تواند منجر به تاخیر در بروز و یا شکسته شدن مقاومت و همینطور کاهش مصرف ترکیبات شیمیایی و اسانس شود. در این تحقیق، ابتدا اثر تنفسی و تماسی اسانس پوست پرتقال روی کنه تارتن دو لکه‌ای مورد بررسی قرار می‌گیرد. سپس اثر تماسی اسانس در ترکیب با دو کنه‌کش پروپارژیت و اسپیرودیکلوفن به منظور تعیین خاصیت سینرژیستی یا آنتاگونیستی آن ارزیابی می‌شود.

www.SID.ir

Archive of SID

مواد و روش‌ها

پرورش گیاه میزبان

در این پژوهش، از گیاه لوبیا *Phaseolus vulgaris*، رقم اختر برای پرورش کنه تارتن دولکه‌ای استفاده شد. بدین منظور بذرهای لوبیا از بانک ژن گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه تهران تهیه شد. بذرهای تهیه شده به طور منظم هر ۷ الی ۱۰ روز در گلدان‌های پلاستیکی حاوی کوکوپیت و پرلیت کاشته شد. گلدان‌ها در شرایط گلخانه با دمای ۵±۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۲۰±۵۰ درصد نگهداری شدند.

پرورش کنه تارتن دو لکه‌ای

جمعیت اولیه کنه‌های *T.urticae* از آزمایشگاه کنه‌شناسی گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه تهران تهیه و روی لوبیا رقم اختر قرمز پرورش داده شد. به منظور همسن‌سازی کنه‌ها، ابتدا دیسک‌های برگی لوبیا با میانگین قطر ۵/۵ سانتی‌متر در ظروف پتری ۹ سانتی‌متری قرار گرفت که کف آن‌ها با پنبه خیس، به منظور تامین رطوبت برگ‌ها پوشانده شده بود. سپس ۳۰ عدد کنه ماده بالغ به وسیله قلم مو روی هر یک از دیسک‌های برگی گیاه لوبیا منتقل و پس از ۲۴ ساعت کنه‌های بالغ حذف شدند. لازم به ذکر است، برای جلوگیری از فرار کنه‌ها دور دیسک برگی با پنبه نازک (۵ میلی‌متر) مرطوب پوشانده شد. ظروف پتری‌حاوی دیسک برگی و تخم در اتاقک رشد با دمای۲±۲۴ درجه سیلسیوس، رطوبت نسبی ۱۰±۷۰ درصد، دوره روشنایی ۱۶ ساعت و تاریکی ۸ ساعت نگهداری شد. پس از این مرحله، تا زمان مشاهده افراد بالغ، دیسک‌های برگی روزانه مورد بازدید قرار گرفتند.

تهیه اسانس پوست پرتقال

پوست پرتقال *C. sinensis* رقم دزفولی در این تحقیق به کار رفت. میوه پرتقال در اوایل زمستان ۱۳۹۳ از باغ‌های مرکبات سم‌پاشی نشده شهرستان دزفول جمع‌آوری شد. پوست پرتقال به وسیله رنده کردن به قطعات کوچک‌تر تبدیل و بلافاصله اسانس‌گیری شد. در هر بار اسانس‌گیری ۱۰۰ گرم پوست تر با ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۴ ساعت در دستگاه Clevenger قرار گرفت و به روش تقطیر با بخار آب (Ferhat *et al*., 2006) اسانس‌گیری شد. آبگیری اسانس‌ها با سدیم سولفات خشک انجام شد که به ازای هر ۱۰۰ گرم پوست تر ۴/۵ میلی‌لیتر اسانس به‌دست آمد. اسانس‌های حاصله در شیشه‌های کوچک قهوه‌ای که با روپوش‌های آلومینیومی پوشانده شده بود قرار گرفت و تا زمان استفاده در آزمایش‌ها، داخل یخچال در شرایط دمایی ۴ درجه سلسیوس نگه داری شد.

تهیه آفت‌کش‌های شیمیایی

پروپارژیت به صورت ماده تکنیکال ۹۰٪ از شرکت گیاه سبز (استان البرز) تهیه شد. اسپیرودیکلوفن (Envidor®) به صورت فرمولاسیون SC ۲۴٪ تولیدی شرکت بایر آلمان بود.

آزمون‌های زیست سنجی

آزمون‌های زیست سنجی در دو روش سمیت تنفسی اسانس و سمیت تماسی اسانس، پروپارژیت و اسپیرودیکلوفن روی ماده‌های بالغ کنه تارتن دولکه‌ای انجام شد.

آزمون سمیت تنفسی

به منظور تعیین سمیت تنفسی اسانس پوست پرتقال روی کنه‌های ماده بالغ، واحدهای آزمایشی شامل ظروف پتری ۹ سانتی‌متری بودند که کف آن‌ها با کاغذ صافی مرطوب پوشانده شده بود. سپس دیسک‌های برگی با قطر ۵ سانتی‌متر روی کاغذهای صافی قرار داده شد. در مرحله بعد ۱۰ عدد کنه ماده بالغ هم‌سن روی هر دیسک برگی قرار داده شد. غلظت‌های کشنده ۵۰ درصد (LC_{50})، طی دو مرحله آزمون اولیه[1] و نهایی با فاصله لگاریتمی تعیین شد. غلظت‌های ۴۱/۹۹، ۴۴/۹۸، ۴۸/۱۲، ۵۱/۴۷، ۵۵/۰۳، ۵۸/۸۳ میکرولیتر بر لیتر هوا از اسانس پوست پرتقال، بر اثر تماس نوک سمپلر با کاغذ صافی (واتمن شماره ۴۲ به قطر یک سانتی‌متر) تعبیه شده زیر درپوش ظرف پتری، جذب کاغذ شد. در ادامه درپوش ظروف پتری روی آن‌ها قرار گرفت و به منظور جلوگیری از نفوذ اسانس به محیط بیرون، با پارافیلم اطراف آن به طور کامل پوشانده شد. کنه‌ها پس از

[1] Bracketing tests

www.SID.ir

Archive of SID

تیمار در شرایط دمایی ۲± ۲۳ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۶۰ درصد و دوره روشنایی ۱۶ ساعت و تاریکی ۸ ساعت نگهداری شد. بعد از گذشت ۲۴ ساعت از شروع آزمایش، تعداد کنه‌های تلف شده شمارش شد. کنه‌هایی که هنگام تحریک با قلم مو هیچ گونه حرکتی انجام نمی-دادند به عنوان مرده در نظر گرفته شد (Stavrinides *et al.*, 2009).

آزمون سمیت تماسی

به منظور تعیین سمیت تماسی روی کنه‌های ماده بالغ، ابتدا طی آزمایش‌های مقدماتی غلظت‌های موثر پروپارژیت، اسپیرودیکلوفن و اسانس پوست پرتقال، برای مرگ‌ومیر ۲۵ تا ۷۵ درصد در کنه‌های تیمار شده به دست آمد.

برای انجام آزمایش مربوط به اسانس پوست پرتقال، ابتدا اسانس به کمک Triton X-100 (۰/۲۵٪) (Koschier *et al.*, 2003) با آب مخلوط شد، هر یک از غلظت‌ها به طور جداگانه به وسیله آب مقطر به حجم یک میلی‌لیتر رسانده شد. شاهد شامل آب مقطر و Triton X-100 بود. این آزمایش با غلظت‌های ۱۲۲، ۱۵۰، ۱۸۴، ۲۲۶، ۲۷۷، ۳۴۰ و ۴۲۰ میکرولیتر اسانس در میلی‌لیتر آب با فواصل لگاریتمی از بین غلظت‌هایی که موجب مرگ‌ومیر ۲۵ تا ۷۵ درصد جمعیت مورد آزمایش شدند، انتخاب شد و در سه تکرار انجام شد. در این آزمایش از ظروف پتری ۹ سانتی‌متری استفاده شد که کف آن‌ها با پنبه خیس به منظور حفظ شادابی برگ در طول انجام آزمایش پوشانده شده بود. در هر ظرف پتری یک دیسک برگی لوبیا به قطر ۵/۵ سانتی‌متر قرار داده شد و برای جلوگیری از فرار کنه‌ها دور آن با پنبه خیس به قطر ۵ میلی‌متر پوشانده شد، سپس ۲۰ عدد کنه ماده بالغ همسن به وسیله قلم‌مو در سطح پشتی دیسک برگی قرار گرفت. در این آزمایش هر ظرف پتری ابتدا وزن شد و بلافاصله پس از آن محلول‌پاشی روی آن‌ها انجام گرفت (Chiasson *et al.*, 2001). برای هر تکرار به میزان یک میلی‌لیتر از محلول مورد نظر به مخزن برج سمپاشی منتقل و سپس در فشار ۷ psi (۴۸/۲۳ kPa) محلول‌پاشی انجام گرفت (Herron *et al.*, 2003). در نهایت، ظروف پتری حاوی کنه به وسیله برج سمپاش در معرض محلول‌های ساخته شده قرار گرفتند. با پاشیدن هر یک میلی‌لیتر محلول به طورمیانگین ۱/۱ میلی‌گرم نهشت در سانتی‌متر مربع روی دیسک برگی قرار گرفت. کنه‌ها پس از تیمار در شرایط دمایی ۲± ۲۳ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۶۰ درصد و دوره روشنایی ۱۶ ساعت و تاریکی ۸ ساعت نگهداری شد. کنه‌هایی که هنگام تحریک با قلم‌مو هیچ گونه حرکتی انجام نمی‌دادند به عنوان مرده در نظر گرفته شدند. آنالیز پروبیت روی داده‌های حاصل از مرگ-ومیر توسط نرم افزار پولوپی‌سی (LeOra Software, 2003) انجام گرفت.

در انجام آزمون‌های زیست‌سنجی پروپارژیت، برای تهیه غلظت‌ها ابتدا یک محلول ذخیره ۱۰ میلی‌لیتری ساخته شد که شامل ماده اصلی تکنیکال (۱۲ میلی‌گرم)، اتانول ۹۶٪ (۰/۲ میلی لیتر) و آب مقطر (۹/۷۸۸ میلی لیتر) بود. در تیمار شاهد از آب مقطر و اتانول استفاده شد. غلظت‌های مورد استفاده شامل ۳۵۰، ۴۲۳، ۵۱۲، ۶۱۹/۸۶ و ۷۵۰ میلی-گرم ماده فرموله شده در یک میلی‌لیتر آب بود. تمامی غلظت‌های مربوط به این آزمایش در چهار تکرار مورد بررسی قرار گرفت. نحوه انجام این آزمون مطابق آزمایش-های مربوط به اسانس پوست پرتقال بود.

در آزمایش مربوط به اسپیرودیکلوفن، غلظت‌ها با یک محلول ذخیره ۶ میلی‌لیتری شامل آب مقطر و فرمولاسیون اسپیرودیکلوفن (سوسپانسون غلیظ) (۲۵ میلی‌گرم) تهیه شد. در این آزمایش از غلظت‌های ۳۵/۱۵، ۴۷، ۶۳، ۸۴ و ۱۱۲/۲ میلی‌گرم بر حسب مقدار ماده فرموله شده در یک میلی‌لیتر آب با چهار تکرار استفاده شد. در تیمار شاهد فقط از آب مقطر استفاده شد. مراحل انجام این آزمون همانند دو آزمون قبلی انجام شد. لازم به ذکر است که آزمایش‌های مربوط به اسپیرودیکلوفن به دلیل کند اثر بودن این ترکیب، ۷۲ ساعت بعد از انجام آزمایش بررسی شد.

بررسی برهمکنش بین آفت‌کش‌ها

برای بررسی اثر هم‌افزایی بین دو ترکیب، ۵۰۰ میلی‌گرم از مقادیر محاسبه شده LC_{25} اسپیرودیکلوفن و پروپارژیت

www.SID.ir

Archive of SID

به صورت جداگانه با ۵۰۰ میکرولیتر از $LC_{۲۵}$ اسانس پوست پرتقال مخلوط و بعد از محلول‌سازی مطابق روش‌های پیشین، روی کنه‌های ماده بالغ به کار برده شد. آزمایش‌ها در ۵ تکرار انجام شد. در نهایت برای بررسی برهم‌کنش بین ترکیبات از عامل ضریب سمیت مشترک[۲] (CTC) استفاده شد.

$$\text{ضریب سمیت مشترک} = \frac{\%EM - \%OM}{\%EM} \times ۱۰۰$$

در رابطه بالا، EM بیانگر درصد مرگ‌ومیر مورد انتظار و OM بیانگر درصد مرگ‌ومیر مشاهده شده است. بر اساس این رابطه اگر CTC >20 باشد اثر هم‌افزایی و 0>CTC اثر آنتاگونیستی و اگر 0<CTC<20 باشد اثر افزایشی دارد (Sun and Johnson, 1960).

نتایج و بحث

با تجزیه پروبیت داده‌های به دست آمده از زیست‌سنجی‌های کنه تارتن دولکه‌ای با کنه‌کش‌های اسپیرودیکلوفن، پروپارژیت و اسانس پوست پرتقال، غلظت میانه کشنده مشخص شد. با مقایسه سمیت تنفسی و تماسی اسانس پوست پرتقال می‌توان نتیجه گرفت که کاربرد اسانس پوست پرتقال به صورت تنفسی سمیت بیشتری نسبت به کاربرد تماسی آن دارد (جدول ۱). همچنین با مقایسه سمیت تماسی اسانس پوست پرتقال با دو ترکیب شیمیایی، بیشترین حساسیت کنه دولکه‌ای در تیمار با اسپیرودیکلوفن و در درجه دوم در برابر اسانس پوست پرتقال مشاهده شد. سمیت پروپارژیت به نسبت کمتر از اسپیرودیکلوفن و اسانس بود (جدول ۲).

پوست پرتقال از ضایعات کشاورزی و صنایع غذایی است که به تازگی از اسانس آن درصنایع مختلف، به ویژه صنایع بهداشتی و غذایی مانند اضافه شدن به نوشیدنی‌های گازدار، خوشبوکننده‌های هوا و عطرها استفاده شده است. نتایج این تحقیق نشان داد که با تحقیقات بیشتر، اسانس پوست پرتقال می‌تواند به عنوان یک ترکیب طبیعی در کنترل کنه تارتن دولکه‌ای مورد توجه قرار گیرد.

[2]Co toxicity coefficient

به‌طور کلی نتیجه برهمکنش ترکیبات به سه صورت است. اگر تاثیر مخلوط دو ترکیب با هم، با مجموع اثر آن‌ها در حالت انفرادی یکسان باشد این پدیده را افزایشی[۳] می‌نامند. زمانی که تاثیر مخلوط دو ترکیب بیشتر از مجموع اثر هر کدام از آن‌ها در حالت انفرادی باشد، آن‌را پدیده هم‌افزایی[۴] می‌گویند. وقتی که اثر دو ترکیب به صورت مخلوط کمتر از مجموع اثر آن‌ها در حالت انفرادی باشد را پدیده آنتاگونیستی[۵] می‌نامند (Kepner, 2004). در تحقیق حاضر مرگ و میر ناشی از اختلاط $LC_{۲۵}$ اسانس پوست پرتقال و پروپارژیت در مقایسه با تلفات مورد انتظار مجموع آن‌ها (۵۰٪)، ۴۵ درصد بود. همچنین تلفات ناشی از اختلاط $LC_{۲۵}$ اسانس پوست پرتقال و اسپیرودیکلوفن در مقایسه با تلفات مورد انتظار مجموع آن‌ها (۵۰٪)، ۹۶/۶۶ درصد بود (جدول ۳). شکل ۱ نشان‌دهنده مخلوط $LC_{۲۵}$ اسانس با ۲۵ LC اسپیرودیکلوفن و پروپارژیت است که با غلظت‌های کشنده متوسط ($LC_{۵۰}$) هر یک از ترکیبات قابل مقایسه می‌باشد. این نتایج نشان دادند که در مخلوط اسانس با پروپارژیت و اسپیرودیکلوفن به‌ترتیب اثر آنتاگونیستی و سینرژیستی دیده می‌شود (شکل ۱).

[3]Additive
[4]Synergy
[5]Antagonism

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- مقایسه سمیت تنفسی (میکرولیتر بر لیتر هوا) و تماسی (میکروگرم بر سانتی‌متر مربع) اسانس پوست پرتقال روی ماده-های بالغ کنه تارتن دولکه‌ای

Table 1. Comparison of fumigant and contact toxicity of orange peel, *Citrus sinensis* (L.) essential oil on adult females of *Tetranychus urticae*

Citrus sinensis essential oil	mite	LC_{50}	S.E. ± slope	χ^2	df
Fumigant toxicity	320	48.75	3.64±27.48	39.16	22
Contact toxicity	480	11.48	6.423±1.489	16.641	19

Units LC_{50} of fumigant toxicity = µl/l air, applied for 24 h at 25° C.

Units LC_{50} of contact toxicity =µg/cm^2, applied for 24 h at 25° C.

جدول ۲- نتایج حاصل از تجزیه پروبیت اثر تماسی پروپارژیت، اسانس پوست پرتقال و اسپیرودیکلوفن روی ماده‌های بالغ کنه تارتن دولکه‌ای

Table 2. Probit analysis of contact toxicity of propargite, *Citrus sinensis* essential oil and spirodiclofen to adult females of *Tetranychus urticae*

Compounds	mite	LC_{50} (µg/cm^2)	S.E. ±slope	χ^2	df
propargite	480	28.51	3.863 ±0.634	12.853	18
C. sinensis essential oil	480	11.48	6.423±1.489	16.641	19
spirodiclofen	480	2.76	1.84 ±0.299	36.81	22

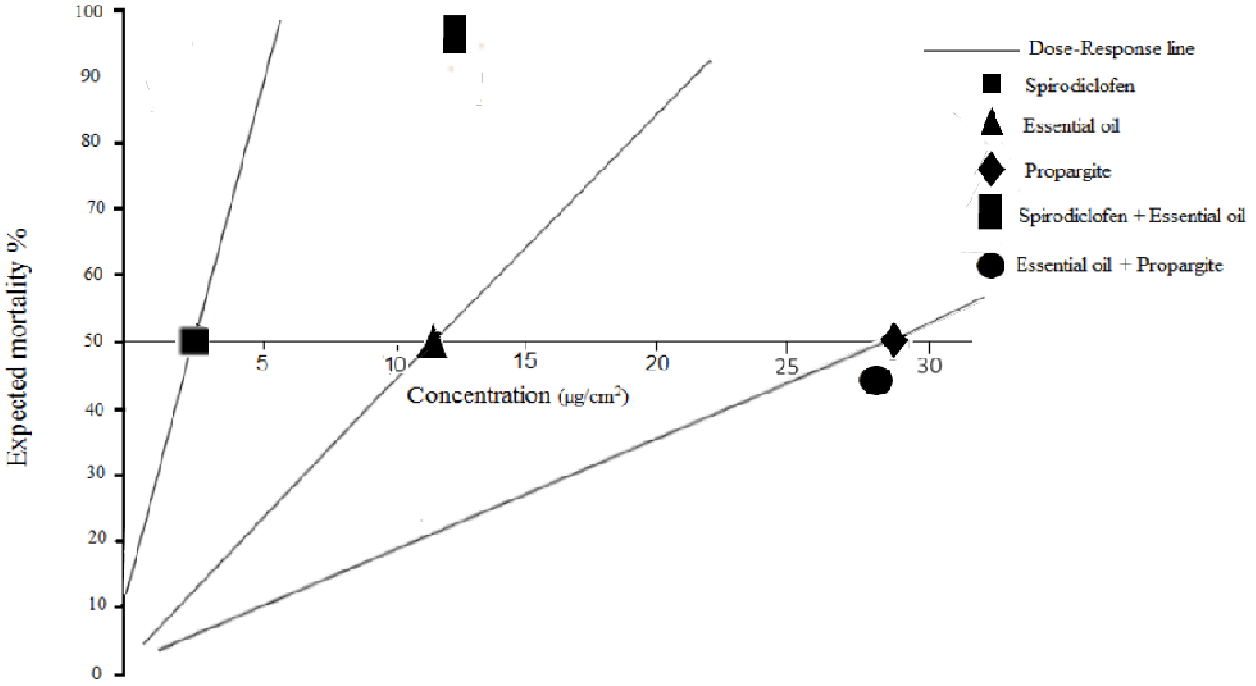
جدول ۳- تاثیر مخلوط اسانس پوست پرتقال با اسپیرودیکلوفن و پروپارژیت در $LC_{۲۵}$ روی ماده‌های بالغ کنه‌تارتن دولکه‌ای *Tetranychus urticae*

Table 3. Effect of binary mixtures of *Citrus sinensis* essential oil with spirodiclofen and propargite at LC_{25} against adult females of *Tetranychus urticae*

Mixture	LC_{25} (µg/cm^2)		% Mortality		CTC (LC_{25})
compound A + compound B	compound A + compound B		Expected	Observed	
essential oil + spirodiclofen	9.01	1.44	50	96.66	93.32
propargite + essential oil	9.01	19.07	50	45	-10

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱- مقایسه مرگ‌ومیر ایجاد شده در مخلوط اسانس پوست پرتقال با اسپیرودیکلوفن و پروپارژیت

Figure 1. Comparison of mortality caused by combinations of peel essential oil of *Citrus sinensis* with spirodiclofen and propargite

همچنین نتایج به دست آمده از این مطالعات نشان داد که اسانس پوست پرتقال در شرایط آزمایشگاهی، به تنهایی تاثیر کنه‌کشی بیشتری نسبت به پروپارژیت داشته است که توان بالقوه کنه‌کشی آن را نشان می‌دهد (جدول ۲). در ایران تحقیقاتی در رابطه با سمیت تنفسی اسانس پوست پرتقال روی شپشه برنج، شپشه آرد (کبیری رئیس‌آباد وهمکاران، ۱۳۹۳؛ حیدری و همکاران،۱۳۹۳) و شب‌پره هندی (توکلی و همکاران، ۱۳۹۱؛Mahmoudvand *et al.*, 2011) انجام شده است و در سایر نقاط جهان هم به صورت وسیع روی آفات انباری مانند سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات (Moravej, 2008)، سوسک برزیلی و شپشه آرد (Zewde *et al.*, 2010) انجام گرفته است. اما در مورد سمیت تماسی اسانس پوست پرتقال در ایران هیچ گزارشی وجود ندارد و در سایر نقاط جهان گزارشی در این باره روی کنه تارتن دو لکه‌ای موجود نیست. در این تحقیق میزان LC_{50} اسانس پوست پرتقال ۲۴۷/۸۹ میکرولیتر بر میلی‌لیتر (۱۱/۴۸ میکروگرم بر سانتی‌متر مربع) برآورد شد که این میزان با آزمایش‌های بداوی و همکاران (Badawy *et al.*, 2010) تا حدودی مشابهت دارد. در تحقیق مذکورترکیب لیمونن را به‌صورت تماسی علیه کنه تارتن دولکه‌ای ماده بالغ مورد آزمایش قرار دادندکه LC_{50} محاسبه شده برای این ترکیب را ۲۵۵/۴۴ میلی‌گرم بر لیتر گزارش کردند. لازم به ذکر است که لیمونن اصلی‌ترین ترکیب اسانس پوست پرتقال می‌باشد (Araújo *et al.*, 2010) به طوری که بعضی از محققین اثر حشره‌کشی و کنه-کشی اسانس پوست پرتقال را به لیمونن نسبت می‌دهند (Kassir *et al.*, 1989). علی‌رغم شباهت در نتایج آزمایش-های بداوی و نتایج تحقیق حاضر، در آزمایش‌های بداوی و همکاران از روش غوطه‌وری برگ استفاده شد. همچنین برای حل کردن اسانس از دی‌متیل سولفوکسید استفاده شد. در تحقیق مشابه دیگر، کومار و همکاران (Kumar*et al.*, 2012).LC_{50} اسانس پوست پرتقال به صورت تماسی روی لارو مگس خانگی ۳/۹۳ و ۰/۷۱ میکرولیتر بر سانتی‌متر مربع گزارش کردند. البته شیوه اجرای آزمایش کومار و همکاران نیز، با تحقیق حاضر متفاوت بود. در این آزمایش، ابتدا اسانس

www.SID.ir

Archive of SID

را روی کاغذ صافی ریخته و سپس حشرات مورد نظر را روی کاغذ صافی قرار دادند. چونج‌سامارنیات و همکاران (Chungsamarnyart *et al*., 1996) سمیت تماسی اسانس پوست پرتقال را در طی ۲۴ ساعت روی کنه *Boophilus microplus* بسیار بالا (۹۹ درصد) گزارش کردند.

به دلیل محدودیت در تحقیقات انجام شده در مورد اختلاط اسانس با آب، اطلاعات کمی در زمینه کاربرد اسانس-ها با برج پاشش و فرموله کردن آن‌ها وجود دارد. نحوه فرموله کردن اسانس برای کاربرد راحت‌تر و موثرتر موضوعی حائز اهمیت می‌باشد. به دلیل فرار بودن بالای این ترکیبات باید طوری آن را فرموله کرد تا قبل از تبخیر به هدف مورد نظر برسد. در تحقیق مشابه انجام شده توسط کوشیر و همکاران (Koschier *et al*., 2003)، تریتون X-100 لازم برای فرموله کردن اسانس را به نسبت ۰/۵ درصد گزارش کردند. این در حالی است که در بررسی حاضر استفاده از این غلظت در تیمار شاهد، تلفاتی بیش از ۳۰ درصد به همراه داشت که به معنای نادرست بودن آزمایش‌ها می‌باشد. در تحقیق مشابه دیگر که توسط کانگا و همکاران (Kanga *et al*., 2002) انجام شد، غلظت استفاده شده تریتون X-100، ۰/۰۱ درصد بود. اما با توجه به نتایج آزمایش‌های مقدماتی، غلظت‌های کمتر از ۰/۲۵ درصد نمی‌توانست اسانس را به راحتی با محلول آبی مخلوط کند. بنابراین همان‌طور که قبل از این اشاره شد، در این تحقیق برای اختلاط اسانس با آب از تریتون X-100 به نسبت ۰/۲۵ درصد استفاده شد.

یکی از راه‌های مدیریت مقاومت آفات، استفاده از ترکیبات هم‌افزا است تا با افزایش تأثیر ترکیب اصلی منجر به کاهش بروز مقاومت شود. اسانس‌ها از جمله ترکیباتی هستند که می‌توانند دارای اثر هم‌افزایی باشند. شالان و همکاران (Shaalan *et al*., 2005) اثرات هم‌افزایی اسانس و عصاره بذر چندین گیاه را با حشره‌کش‌های فنیتروتیون، لامبدا سای‌هالوترین و متوپرن، علیه لارو سن چهار *Aedes aegypti* گزارش کردند. در تحقیقی دیگر ثناگو و کاوسی (۱۳۹۱) اثرات ترکیبی اسپیرودیکلوفن و آزادیراختین را روی کنه تارتن دو لکه‌ای *T. urticae* بررسی کردند. در مخلوط این دو ترکیب فقط در نسبت ۱:۲ اثر هم‌افزایی مشاهده شد (ثناگو و کاوسی، ۱۳۹۱). نتایج حاصل از تحقیق حاضر نیز تاثیر هم‌افزایی اسانس پوست پرتقال و اسپیرودیکلوفن را نشان داده است. اثر هم‌افزایی بین اسانس گیاهان هل، گشنیز، رزماری و چوب سندل با هم‌افزاهای PBO، TPP، DEF و DEM روی ماده‌های بالغ *Culex pipiens* نیز گزارش شده است (Kang *et al*., 2009).

به طور معمول، اسانس‌ها ترکیبی از چند مونوترپن هستند و به همین خاطر شیوه تاثیر متفاوت دارند، که می‌توان از ترکیب اسانس و آفت‌کش شیمیایی به منظور اثر هم‌افزایی استفاده کرد. نتایج این تحقیق بر اساس شاخص هم‌افزایی (CTC) نشان داد که اسانس پوست پرتقال بر اسپیرودیکلوفن اثر هم‌افزایی قوی دارد. در مقابل، ترکیب اسانس و پروپارژیت اثر آنتاگونیستی را نشان داد (جدول ۲). دلیل این اختلاف، احتمالا می‌تواند به نقطه اثر متفاوت دو ترکیب کنه‌کش مربوط باشد. از دیگر دلایل احتمالی این اختلاف، می‌توان به سازگاری یا عدم سازگاری شیمیایی دو ترکیب کنه‌کش با اسانس باشد. نحوه تاثیر لیمونن به طور کامل شناخته نشده است، اما به طور کلی تاثیر آن روی سیستم عصبی مرکزی می‌باشد (Hink & Feel, 1986). پروپارژیت کنه‌کشی از گروه سولفیت‌ها است که نحوه تاثیر این ترکیب به صورت اختلال در فرایند فسفریلاسیون اکسیداتیو می‌باشد (Pridgeon *et al*., 2008). اسپیرودیکلوفن یکی از مهم‌ترین ترکیبات گروه تترونیک اسیدها می‌باشد که به عنوان بازدارنده بیوسنتز چربی‌ها عمل می‌کنند (Ke *et al*., 2010). بنابراین با توجه به نتایج به دست آمده از مخلوط اسانس و اسپیرودیکلوفن می‌توان گفت به دلیل این که نقطه‌ی اثر آن‌ها متفاوت است و نیز به علت ساختار متفاوت این دو ترکیب، سازوکارهای آنزیمی مختلفی در تجزیه آن‌ها دخالت دارد.

با مقایسه اثر سه ترکیب استفاده شده در این تحقیق می-توان نتیجه گرفت که سمیت تماسی اسانس پوست پرتقال روی کنه تارتن دولکه‌ای بیشتر از پروپارژیت است. بر این اساس، شاید بتوان از اسانس پوست پرتقال در کنترل کنه

www.SID.ir

Archive of SID

تارتن دولکه‌ای در گلخانه‌ها استفاده کرد. هر چند در این زمینه تحقیقات بیشتری مورد نیاز است. از طرفی دیگر می‌توان از اثر هم‌افزایی مخلوط اسانس و کنه‌کش اسپیرودیکلوفن، جهت افزایش تأثیر این ترکیبات روی کنه تارتن دولکه‌ای و کاهش دز مصرفی آن‌ها بهره جست. ضمن این که کاربرد دز پایین‌تر اسپیرودیکلوفن در حالت مخلوط، تاثیر زیست-محیطی این آفت‌کش شیمیایی را نیز کاهش خواهد داد.

References

Araújo, C. P., Camara, C. A. G., Neves, I. A., Ribeiro, N. D. C., Gomes, C. A., Moraes, M. M. and Botelho, P. D. S. 2010. Acaricidal activity against *Tetranychus urticae* and chemical composition of peel essential oils of three Citrus species cultivated in NE Brazil. **Natural Product Communications** 5(3): 471-476 .

Badawy, M. E., El-Arami, S. A. and Abdelgaleil, S. A. 2010. Acaricidal and quantitative structure activity relationship of monoterpenes against the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. **Experimental and Applied Acarology** 52(3): 261-274 .

Cavalcanti, S. C. H., Niculau, E. D. S., Blank, A. F., Câmara, C. A. G., Araújo, I. N. and Alves, P. B. 2010. Composition and acaricidal activity of *Lippiasidoides* essential oil against two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). **Bioresource Technology** 101(2): 829-832.

Chiasson, H., Bélanger, A., Bostanian, N., Vincent, C. and Poliquin, A. 2001. Acaricidal properties of *Artemisia absinthium* and *Tanacetum vulgare* (Asteraceae) essential oils obtained by three methods of extraction. **Journal of Economic Entomology** 94(1): 167-171.

Chungsamarnyart, N. and Jansawan, W. 1996. Acaricidal activity of peel oil of *Citrus* spp. on *Boophilus microplus*.**Kasetsart Journal - Natural Science** 30: 112-117 .

Corbel, V., Stankiewicz, M., Bonnet, J., Grolleau, F., Hougard, J. M. and Lapied, B. 2006. Synergism between insecticides permethrin and propoxur occurs through activation of presynaptic muscarinic negative feedback of acetylcholine release in the insect central nervous system. **NeuroToxicology** 27(4): 508-519.

Ferhat, M. A., Meklati, B. Y., Smadja, J. and Chemat, F. 2006. An improved microwave Clevenger apparatus for distillation of essential oils from orange peel. **Journal of Chromatography A** 1112(1–2): 121-126.

Harve, G. and Kamath, V. 2004. Larvicidal activity of plant extracts used alone and in combination with known synthetic larvicidal agents against *Aedes aegypti*. **Indian Journal of Experimental Biology** 42(12): 1216-1219 .

Herron, G. A., Rophail, J., Holloway, J. and Barchia, I. 2003. Potentiation of a propargite and fenpyroximate mixture against two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). **Experimental and Applied Acarology** 29(1-2): 115-119.

Heydari, F., Seraylo, M. H., Nadimi, A. and Ghasemi, V. 2014. Fumigant toxicity of essential oil of orange peel *Citrus sinensis* (L.) and *Citrus paradisi* on *Tribolium castaneum*. Second National Conference on Medicinal Plants and Sustainable Agriculture (in Farsi). http://www.civilica.com/Paper-Mpsa02-Mpsa02_030.html.

Hink, W. F. and Feel, B. J. 1986. Toxicity of D-limonene, the major component of citrus peel oil, toall life stages of the cat flea, *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae). **Journal of Medical Entomology** 30(23)**:** 400-404.

Huffaker, C. B., Vrie, M. V. and Murtry, J. A. 1969. The ecology of tetranychid mites and their natural control. **Annual Review of Entomology** 14(1): 125-174.

Hummelbrunner, L. A. and Isman, M. B. 2001. Acute, sublethal, antifeedant, and synergistic effects of monoterpenoid essential oil compounds on the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (Lep., Noctuidae). **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 49(2): 715-720.

www.SID.ir

Archive of SID

James, D. G. and Price, T. S. 2002. Fecundity in twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae) isincreased by direct and systemic exposure to imidacloprid. **Journal of Economic Entomology** 95(4): 729-732 .

Kabiri, M. and Amiri, B. 2014. Evaluation of fumigant toxicity of orange peel *Citrus sinensis* (L.) essential oil against *Sitophilus oryzae* and *Tribolium castaneum*. **Journal of Research Entomology** 6(1): 43-52(in Farsi).

Kang, S. H., Kim, M. K., Noh, D. J., Yoon, C. and Kim, G. H. 2009. Spray adulticidal effects of plant oils against house mosquito, *Culex pipiens* Pallens (Diptera: Culicidae). **Journal of Pesticide Science** 34(2): 100-106.

Kanga, L., James, R. and Boucias, D. 2002. *Hirsutella thompsonii* and *Metarhizium anisopliae* as potential microbial control agents of *Varroa destructor*, a honey bee parasite. **Journal of Invertebrate Pathology** 81(3): 175-184 .

Kassir, J., Mohsen, M. Z. and Mehdi, N. 1989. Toxic effects of limonene against *Culex quinquefasciatus* Say larvae and its interference with oviposition. **Anzeiger Für Schädlingskunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz** 62(1): 19-21 .

Ke, S., Sun, T., Zhang, Z., Zhang, Y.-N., Liang, Y., Wang, K. and Yang, Z. 2010. Spirodiclofen analogues as potential lipid biosynthesis inhibitors: a convenient synthesis, biological evaluation, and structure-activity relationship. **Bulletin of Korean Chemical Society** 31(8): 2315 .

Kepner, J. 2004. Synergy: The big unknowns of pesticide exposure. **Pesticides and You** 23(4): 17-20 .

Koschier, E. H. and Sedy, K. A. 2003. Labiate essential oils affecting host selection and acceptance of *Thrips tabaci* Lindeman. **Crop Protection** 22(7): 929-934.

Koul, O., Walia, S. and Dhaliwal, G. 2008. Essential oils as green pesticides: potential and constraints. **Biopesticides International** 4(1): 63-84.

Kumar, P., Mishra, S., Malik, A. and Satya, S. 2012. Insecticidal evaluation of essential oils of *Citrus sinensis* L. (Myrtales: Myrtaceae) against housefly, *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). **Parasitology Research** 110(5):1929-1936.

LeOra, S. 2003. Poloplus, a user's guide to probit or logit analysis. *LeOra Software, Berkeley, CA* .

Mahmoudvand, M., Abbasipour, H., Basij, M., Hosseinpour, M. H., Rastegar, F. and Nasiri, M. B. 2011. Fumigant toxicity of some essential oils on adults of some stored-product pests. **Journal of Agricultural Research** 71(1): 83-89 .

Moravej, G. 2008. Fumigant toxicity of citrus oils against cowpea seed beetle *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). **Pakistan Journal of Biological Sciences** 42(2): 275-284.

Murray, K. D., Hasegawa, S. and Alford, A. R. 1999. Antifeedant activity of *Citrus limonoids* against *Colorado potato* beetle: comparison of aglycones and glucosides. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 92(3): 331-334 .

Pridgeon, J. W., Pereira, R. M., Becnel, J. J., Allan, S. A., Clark, G. G. and Linthicum, K. J. 2008. Susceptibility of *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus* say, and *Anopheles quadrimaculatus* say to 19 pesticides with different modes of action. **Journal of Medical Entomology** 45: 82-87.

Raghavendra, B. S., Prathibha, K. P. and Vijayan, V. A. 2013. Synergistic effect of *Eugenia jambolana* Linn. and *Solidago canadensis* Linn. leaf extracts with deltamethrin against the dengue vector *Aedes aegypti* Linn. at Mysore. **Environmental Science andPollution Research** 20(6): 3830-3835.

Sanago, A. and Kavousi, A. 2012. Potentiation of a spirodiclofen and azadirachtin mixture against two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. 20th Iranian Plant Protection Congress 400 (in Farsi).

Shaalan, E. A. S., Canyon, D. V., Younes, M. W. F., Abdel-Wahab, H. and Mansour, A. H. 2005. Synergistic efficacy of botanical blends with and without synthetic insecticides against *Aedes aegypti* and *Culex annulirostris* mosquitoes. **Journal of Vector Ecology** 30(2): 284-288 .

www.SID.ir

Archive of SID

Stavrinides, M. C. and Hadjistylli, M. 2009. Two-spotted spider mite in Cyprus: ineffective acaricides, causes and considerations. **Journal of Pest Science** 82(2): 123-128.

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

Tavakoli, S., Mohamadi, SH., Hadizadeh, A. and Tajik, Gh. 2012. Fumigant toxicity, persistence and long-term effects of essential oils Citrus against adults and larvae of the *Plodia interpunctella*. National Conference and Festival Date Palm of Iran (in Farsi). http://www.civilica.com/Paper Irandate01- Irandate01_052.html.

Tong, F. and Bloomquist, J. R. 2013. Plant essential oils affect the toxicities of carbaryl and permethrin against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology** 50(4): 826-832.

Van Leeuwen, T., Vontas, J., Tsagkarakou, A., Dermauw, W. and Tirry, L. 2010. Acaricide resistance mechanisms in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* and other important Acari: A review. **Insect Biochemistry and Molecular Biology** 40(8): 563-572.

Yi, F., Zou, C., Hu, Q. and Hu, M. 2012. The joint action of destruxins and botanical insecticides (Rotenone, Azadirachtin and Paeonolum) against the cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover. **Molecules** 17(6): 7533-7542 .

Zewde, D. K. and Jembere, B. 2010. Evaluation of orange peel *Citrus sinensis* (L.) as a source of repellent, toxicant and protectant against *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: bruchidae). **Momona Ethiopian Journal of Science** 2(1): 61-75.

www.SID.ir

Archive of SID

Plant Pest Research
2016- 5(4): 39-50

Effects of mixture of orange peel essential oil with two chemical acaricides, spirodiclofen and propargite against adult females of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae)

S. E. Shafiei[1], Kh. Talebi-Jahromi [1*] and Q. Sabahi[1]
1. Department of Plant Protection, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj.

(Received: May 24, 2015- Accepted: December 21, 2015)

Abstract

Recently, the use of plant essential oil as natural compound for protecting crops and decreasing environmental pollutions has been considered. In this study, contact and fumigant toxicity of peel essential oil of *Citrus sinensis* singly and in combination with spirodiclofen and propergite were evaluated against adult females of two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. Median lethal concentration (LC_{50}) values of essential oil of orange peel in the contact and fumigant toxicity assay, were 11.48 µg/cm^2 and 48/75 µl/l air, respectively. Contact toxicity of *C. sinensis* essential oil in comparison with the two chemical compounds showed that *T. urticae* was more sensitive to spirodiclofen (LC_{50}= 2.76 µg/cm^2) than the essential oil, while propargite was less efficient (LC_{50}= 28.51 µg/cm^2). Furthermore, mixture of propargite and essential oil of orange peel (both at LC_{25}) showed a mortality less than the total expected mortality (50 %). In contrast, mortality of LC_{25} of spirodiclofen mixed with *C. sinensis* essential oil was much higher than that of the total expected mortality (96.66 %). According to co-toxicity coefficient (CTC) factor, mixtures of *C. sinensis* essential oil with propargite and spirodiclofen, exhibited antagonistic and synergistic effects, respectively.

Key words: Peel essential oil of *Citrus sinensis*, two-spotted spider mite, spirodiclofen, propargite, synergist

∗Corresponding author: khtalebi@ut.ac.ir

www.SID.ir