تحقیقات آفات‌گیاهی
۱۰۶- ۹۵ :(۲) ۱۴- ۱۴۰۳
Open access
doi: 10.22124/iprj.2024.27983.1584
pISSN:2322-2409
eISSN: 2538-6123

علمی پژوهشی

تأثیر امولسیون عصاره سیر روی راب *Agriolimax agrestis* در گلخانه کاهو

الهام احمدی[1]*، مولود غلام‌زاده چیتگر[2] و بابک حیدری علیزاده[3]

۱- بخش تحقیقات جانورشناسی کشاورزی، موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران، 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 آفت‌کش‌ها، موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

1. 0000-0002-8106-7391, 2. 0000-0002-7756-1610, 3. 0000-0002-4115-743X

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۵/۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۶/۳۰)

چکیده

کارایی امولسیون ۵۰ درصد عصاره سیر روی راب *Agriolimax agrestis* در گلخانه‌های کاهوی استان‌های مازندران (ساری) و البرز (کرج) در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی مورد ارزیابی قرار گرفت. آزمایش زیست‌سنجی روی راب‌های نابالغ هم‌سن به وزن ۰/۵ تا ۰/۷ گرم انجام و تلفات آن‌ها بعد از ۲۴ ساعت تعیین و مقدار LC_{50} برآورد شد. آزمایش‌های ارزیابی کارایی در گلخانه با تیمارهای: ۱) عصاره سیر (در دو غلظت یک و دو برابر LC_{50})، ۲) راب‌کش معدنی فریکول® (۵ گرم در مترمربع)، ۳) راب‌کش شیمیایی متالدئید لوماکیدین ۵ جی® (۰/۷ گرم در مترمربع) و شاهد، انجام شد. براساس نتایج آزمایش زیست‌سنجی، مقدار LC_{50} برای عصاره سیر برابر با ۲۴/۶ گرم بر لیتر برآورد شد. در گلخانه، با افزایش غلظت عصاره، درصد کارایی آفت‌کشی افزایش یافت. میانگین کارایی عصاره سیر با غلظت دو برابر LC_{50} در دو استان پس از گذشت دو، چهار، هشت، پانزده و بیست و یک روز به‌ترتیب برابر ۲/۵± ۵۵/۸، ۲/۹±۶۰/۸، ۲/۳±۶۴/۹، ۲/۳±۷۰/۲ و ۲/۴±۷۳/۷ درصد محاسبه شد. هر چند میزان این کارایی در روز بیست و یکم در مقایسه با متالدئید به طور معنی‌داری کمتر بود، نتایج نشان می‌دهد که عصاره سیر قادر به ایجاد مرگ و میر در جمعیت راب نابالغ است. در تیمار عصاره سیر، میزان خسارت برآورد شده در روز بیست و یکم آزمایش در استان‌های مازندران و البرز (به‌ترتیب ۳۷/۷ و ۳۲/۸ درصد) نسبت به شاهد (به‌ترتیب ۸۹/۵ و ۸۱/۲ درصد) به طور معنی‌داری کمتر بود. از این‌رو در راستای کاهش مصرف و اثرات نامطلوب آفت‌کش‌های شیمیایی، کاربرد متناوب عصاره سیر با سایر راب‌کش‌ها در برنامه‌های مدیریتی راب *A. agrestis* پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: راب ، عصاره سیر، زیست‌سنجی، کاهو

*نویسنده مسئول: e1_ahmadi@yahoo.com

CC BY

مقدمه

راب‌ها از نظر رده‌بندی به شاخه نرم‌تنان (Mollusca)، رده شکم‌پایان (Gastropoda) و راسته ستون چشم‌داران (Stylommatophora) تعلق دارند (Srivastava, 1992). این موجودات به عنوان یکی از مهم‌ترین آفات محصولات کشاورزی در بیشتر نقاط دنیا شناخته شده‌اند (Zala *et al*., 2018). آن‌ها به گیاهان سبز و تازه نظیر سبزیجات برگی به شدت خسارت وارد می‌نمایند (Klein *et al*., 2018). راب *Agriolimax agrestis* Linnaeus متعلق به خانواده آگرولیماسیده (Agriolimacidae) با استفاده از دندانه‌هایی که روی عضو کیتینی رادولا دارد قادر است بافت گیاه را سوراخ و از آن تغذیه نماید (Klein *et al*., 2018). راب نامبرده یکی از گونه‌های فعال و خسارت‌زا در محیط‌های گلخانه‌ای به‌ویژه در شمال کشور است که روی محصول خسارت کمی و کیفی ایجاد می‌کند. این جانور از برگ‌ها، گل‌ها و بذور انواع سبزیجات برگی از جمله کاهو تغذیه کرده و با آلودگی برگ‌ها به مدفوع و موکوس (Slime) از بازارپسندی آن می‌کاهد. گونه *A. agrestis* هرساله به بسیاری از سبزیجات در کشورهای اروپایی نظیر انگلستان، هلند، بلژیک و آلمان حمله کرده و خسارت‌های غیرقابل جبرانی وارد می‌کند (Barker, 2002).

برای مبارزه با راب‌ها می‌توان از روش‌های مختلف مکانیکی، زراعی و شیمیایی استفاده کرد. در حال حاضر، از بین روش‌های کنترل، استفاده از سموم شیمیایی نظیر متالدئید بیشترین کاربرد را دارد. این در حالی است که در استفاده مکرر و پیاپی از سموم، عوارض زیست محیطی، مقاومت به آفت‌کش‌ها، از بین رفتن موجودات غیرهدف و خطرات طغیان مجدد وجود دارد (Barua *et al*., 2020). همچنین گزارش‌ها نشان می‌دهد که سالانه حدود ۲۵ میلیون کارگر کشاورزی توسط سموم دفع آفات در کشورهای در حال توسعه مسموم می‌شوند (Farag, 2017). بنابراین، استفاده از روش‌های جایگزین نظیر استفاده از سموم گیاهی یا دورکننده‌های گیاهی می‌تواند ضمن کاهش جمعیت آفات نقش مؤثری در کاهش مصرف سموم شیمیایی داشته باشد. راب‌کش‌های گیاهی به دلیل سمیت کم، کم‌خطر بودن برای انسان و محیط زیست و قابلیت تجزیه زیستی بالا به عنوان جانشین مناسب برای راب‌کش‌های مصنوعی در مدیریت نرم‌تنان مورد توجه قرار گرفته‌اند (Desouky *et al*., 2022). از نظر مدیریت آفات کشاورزی، راب‌کش‌های گیاهی به بهترین شکل برای استفاده در تولید محصولات غذایی ارگانیک در کشورهای پیشرفته سازگار شده‌اند (Khater, 2012). ترکیبات گیاهی در واقع متابولیت‌های ثانویه گیاهان مختلف بوده که از ترکیبات آروماتیک پیچیده تشکیل شده‌اند. متابولیت‌های ثانویه گیاهی شامل آلکالوئیدها، ترپنوئیدها، ترکیبات فنولیک و سایر ترکیبات هستند که تاثیرات مختلفی مانند کشندگی، دورکنندگی، بازدارندگی تخم‌ریزی و ضد تغذیه‌ای در برابر گروه‌های زیادی از نرم‌تنان را دارا هستند (Kumar Das, 2022).

استفاده از ترکیبات گیاهی در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات از جمله مهم‌ترین مواردی است که در سال‌های اخیر به منظور کاهش اثرات نامطلوب ترکیبات شیمیایی به‌صورت ویژه‌ای مورد توجه پژوهشگران مختلف قرار گرفته است. شودر و همکاران (Schuder *et al*., 2003) از عصاره گیاه سیر برای مبارزه با راب گونه *Deroceras panormitanum* Lessona & Pollonera و حلزون *Oxyloma pfeifferi* Rossmassler استفاده کردند. در این بررسی مشخص شد که عصاره سیر در روز هفتم آزمایش تا حدود ۹۷ درصد کشندگی داشته و ۴۱ تا ۱۰۰ درصد خسارت ناشی از نرم‌تنان را کنترل کرده است. در تحقیقی دیگر، روغن یک درصد سیر در مقایسه با کافئین، رزماری و دارچین روی راب *D. reticulatum* Müller کشندگی ۱۰۰ درصد ایجاد نموده است (Klein *et al*., 2018). کومار و همکاران (Kumar *et al*., 2018) گزارش کردند که سیر حاوی یک آلکالید به نام آلیسین است که هنگام خرد شدن آن تولید می‌شود. این ترکیب مانند آنتی‌بیوتیک‌ها عمل می‌کند، به‌طور مستقیم به باکتری‌ها حمله کرده و با جلوگیری از تکثیر باعث از بین رفتن آن‌ها می‌شود. راب‌ها برای هضم غذا نیاز به پروبیوتیک‌ها دارند و به همین دلیل طی تماس با عصاره

سیر به طور واکنشی، عکس‌العمل نشان داده و از بین می‌روند. در تحقیق دیگری، اثر کشندگی آفت‌کش‌های گیاهی شامل روغن چریش و پودر سیر به‌همراه ترکیبات سینرژیتی و پیپرونیل بوکساید (PB) و MGK- 264 روی گونه *Lymnaea acuminata* Lamarck مورد مطالعه قرار گرفت و مشخص شد که آفت‌کش‌های گیاهی چه به‌صورت انفرادی و چه به‌صورت ترکیب با سینرژیست‌ها روی سیستم-های عصبی گونه *L. acuminate* تأثیر می‌گذارند (Singh & Singh, 2000).

در پژوهش حاضر، برای رسیدن به روشی کاربردی و برگرفته از مواد طبیعی در کنترل راب *A. agrestis*، اثر فرمولاسیون امولسیون تهیه‌شده از سیر در بخش تحقیقات آفت‌کش‌های موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور در مقایسه با سایر روش‌های متداول در کنترل راب نامبرده در راستای کاهش مصرف سموم شیمیایی و آلایندگی آن، در شرایط گلخانه مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و پرورش راب *A. agrestis*

برای انجام آزمایش‌ها، در ابتدای فصل فعالیت راب‌ها، از گلخانه‌های سبزی و صیفی آلوده در شهرستان ساری نمونه‌های راب *A. agrestis* جمع‌آوری و توسط نگارنده اول از بخش جانورشناسی موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور شناسایی و تأیید گونه شدند. راب‌ها در اتاقک رشد با دمای ۲±۱۸ درجه سلسیوس، رطوبت ۵ ±۷۵ درصد و دوره نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی داخل ظروف به ابعاد ۲۵×۳۵×۱۵ سانتی‌متر پرورش داده شدند. برای تغذیه، به طور روزانه برگ کاهو، *Lactuca sativa* L. در اختیار جانور قرار گرفت و برای تأمین رطوبت محیط به‌منظور ممانعت از ایجاد اختلال در فعالیت حیاتی جانور، روی برگ‌ها با یک آب‌پاش دستی، مرطوب شد. روزانه ظروف پرورش و سطح برگ‌ها برای جلوگیری ازبروز آلودگی و بیماری جانور، از فضولات راب‌ها تمیز شدند. پس از تخم‌گذاری و خروج نوزاد، از راب‌های هم‌سن نابالغ (وزن ۰/۵ تا ۰/۷ گرم) برای آزمایش‌های زیست‌سنجی استفاده شد.

تهیه عصاره سیر و فرمولاسیون

ابتدا غده‌های سیر همدان پس از خریداری، پوست‌کنی و شستشوی آن‌ها با آب، داخل دستگاه آون در دمای ۴۰ درجه سلسیوس قرار داده و خشک شدند. نمونه‌های خشک‌شده توسط دستگاه آسیاب برقی خرد و پودر حاصل در داخل یخچال در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند (Shekari *et al*., 2008). برای تهیه عصاره سیر، هر ۲۵۰ گرم نمونه‌های پودر شده با حدود ۳۰۰ میلی‌لیتر متانول با درجه خلوص ۸۵ درصد مخلوط و داخل ارلن به مدت یک ساعت روی دستگاه شیکر گذاشته شد. نمونه، به مدت دو روز در دمای چهار درجه سلسیوس نگهداری و به‌صورت مجدد به مدت یک ساعت توسط شیکر تکان داده شد. پس از گذراندن از کاغذ صافی وات‌من شماره ۴، محلول به‌دست‌آمده توسط دستگاه تبخیر در خلاء در دمای ۵۰ درجه سلسیوس تغلیظ شد. مخلوط به جا مانده عصاره نیمه‌جامد با ۲۰۰ میلی‌لیتر متانول حل شد. در نهایت عصاره سیر با غلظت ۵۰ درصد (آب مقطر) و فرمولاسیون امولسیون تهیه و برای آماده‌سازی غلظت‌های مورد نیاز، با آب مقطر رقیق و استفاده شد (Shekari *et al*., 2008). به‌منظور تهیه فرمولاسیون، عصاره سیر به همراه مواد امولسیون‌کننده Tween 85 و Span 85 به صورت فرمولاسیون امولسیون درآمد. بدین منظور تعداد ۱۰ نوع امولسیون بر اساس مقادیر مختلف از مواد امولسیون‌کننده نامبرده شامل نمونه‌های آزمایشی A1 تا A5 به‌ترتیب شامل ۰/۵، ۱، ۲، ۳ و ۴/۹ گرم از امولسیون‌کننده توین و B1 تا B5 به‌ترتیب شامل ۱ گرم اسپان، ۳/۸ گرم توین +۱/۲ گرم اسپان، ۲/۷ گرم توین +۲/۳ گرم اسپان، ۲/۳ گرم توین + ۳ گرم اسپان، و ۴/۹ گرم اسپان تهیه شدند. مخلوط‌های حاصل با دستگاه همزن به خوبی هم‌زده شدند تا تمام اجزا به‌طور کامل حل شده و محلول شفافی به‌دست آید. این مخلوط‌ها هموژنیزه شده و به مدت ۲۴ ساعت در محیط آزمایشگاه قرار داده شدند. پس از بررسی اولیه ظاهری فرمولاسیون از لحاظ شفافیت (Transparency)، نمونه‌ها برای آزمایش پایداری امولسیون بعد از تهیه عصاره، طبق شرایط استاندارد سازمان خواروبار کشاورزی (FAO) از نظر

کرمینگ (Creaming) و دوفاز شدن (Sedimentation) مورد بررسی قرار گرفتند.

آزمایش زیست‌سنجی

در ابتدا آزمایش مقدماتی زیست‌سنجی انجام شد که طی آن از راب‌های نابالغ هم‌سن به وزن ۰/۵ تا ۰/۷ گرم (این محدوده وزنی به عصاره سیر عکس‌العمل قابل توجهی نشان دادند) استفاده شد. در این آزمایش، روش پاشش مستقیم محلول سمی روی جانور اجرا شد. بدین‌صورت که راب‌ها مذکور در دسته‌های ۱۰ عددی در ظروف پتری با قطر ۸ سانتی‌متر قرار داده شدند. سپس با استفاده از یک محلول‌پاش دستی، دو میلی‌لیتر از محلول عصاره سیر به غلظت‌های مختلف آماده شده، روی جانوران مستقر در هر ظرف پاشش شد (Silva *et al.*, 2012). محلول اضافه بلافاصله از ظروف پتری حذف و راب‌ها به ظروف یک‌بار مصرف به ابعاد ۷×۱۷×۱۰ سانتی‌متر که در درب آن‌ها روزنه‌هایی برای تنفس جانور ایجاد شده بود، منتقل شدند. درون هر ظرف برای تغذیه راب، یک قطعه برگ کاهو به قطر ۱۰ سانتی‌متر برش زده و قرار داده شد. آزمایش در چهار تکرار انجام و برای شاهد از آب‌پاشی استفاده شد. بعد از ۲۴ ساعت، ظروف بازدید و تعداد راب‌های مرده شمارش شدند. برای تشخیص راب‌های مرده از زنده، ابتدا توسط سوزن تشریح ضربه زده شد و درصورت عدم مشاهده تحرک و فقدان حرکت سطح پوست، آن راب مرده فرض می‌شد. بدین‌ترتیب، غلظت‌هایی که ۲۵ تا ۷۵ درصد مرگ و میر ایجاد کردند، تعیین و غلظت‌های بینابین با استفاده از فاصله لگاریتمی محاسبه شدند (Robertson & Priesler, 1992). سپس آزمایش اصلی زیست‌سنجی با پنج غلظت عصاره سیر در محدوده غلظت‌های ۱۰-۵۰ درصد (۱۰، ۱۴/۹، ۲۲/۳، ۳۳/۴ و ۵۰) در چهار تکرار به همراه شاهد (آب) انجام شد. روش آزمایش مشابه روش بیان‌شده در زیست‌سنجی مقدماتی بوده و تلفات راب‌ها ۲۴ ساعت بعد از تیمار ثبت شد. سپس میزان LC_{50} با استفاده از نرم‌افزار Polo – Pc محاسبه شد (LeOra software, 1987).

کارایی عصاره سیر در شرایط گلخانه

در این آزمایش، کارایی عصاره سیر در مقایسه با دو ترکیب طعمه مسموم شامل متالدئید لوماکیدین ۵ جی® (متالدئید ۵ درصد تهیه‌شده از شرکت بصیر شیمی) و فریکول® (فسفات آهن ۱ درصد تهیه‌شده از شرکت کیمیاسبزآور) روی راب *A. agrestis* بررسی شد. تیمارها شامل عصاره سیر با دو غلظت یک و دو برابر LC_{50}، متالدئید (۰/۷ گرم در مترمربع، دز توصیه‌شده شرکت سازنده)، فریکول® (۵ گرم در مترمربع، دز مزرعه‌ای توصیه‌شده) و شاهد بودند. آزمایش در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی در گلخانه‌های موجود در ایستگاه تحقیقات ساری و کرج به‌صورت قطعات ۱۰ مترمربعی با چهار تکرار ۲/۵ مترمربعی اجرا شد. هر تکرار، متشکل از هشت عدد گلدان بود که در هر یک، تعداد چهار عدد نشای کاهو (چهار برگی) کشت شده بود. راب‌ها به تعداد ۱۰ عدد در هر تکرار و در مجموع ۴۰ عدد در هر تیمار رهاسازی شدند. به منظور جلوگیری از خروج راب‌ها و یا تداخل آن‌ها با قطعات دیگر، هر قطعه به طور کامل (از تمام سطوح) با تور پلاستیکی محکم محصور شد. پس از استقرار راب‌ها روی گیاه و با مشاهده فعالیت آن‌ها، تیمارها انجام شدند. برای پاشش عصاره سیر از سمپاش پشتی کالیبره‌شده (مقدار محلول ۱۵ میلی‌لیتر به ازای هر گلدان گیاه) استفاده شد. طعمه مسموم‌های متالدئید و فریکول® نیز به صورت کپه‌ای در فضای بین گلدان‌ها پخش شدند. شمارش تعداد راب‌های زنده یک روز قبل و ۲، ۴، ۸، ۱۵ و ۲۱ روز پس از زمان اعمال تیمارها انجام و درصد کارایی تیمارها با فرمول هندرسون – تیلتون محاسبه شد. داده‌های به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS تجزیه و تحلیل و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج

بررسی فرمولاسیون

کنترل کیفی ۱۰ نوع فرمولاسیون تهیه‌شده از عصاره سیر به لحاظ کرمینگ و دوفاز شدن بر اساس استانداردهای سازمان خواروبار کشاورزی نشان داد که در نمونه‌های A-1 و A-2 بعد از ۲۴ ساعت، حالت دوفازی تشکیل می‌شود؛ بنابراین، کیفیت فرمولاسیون تهیه‌شده قابل قبول نیست (جدول ۱)؛ اما سایر نمونه‌ها به دلیل عدم تشکیل کرمینگ و دوفازی از کیفیت مناسبی برخوردار بودند و نمونه A-۵ برای آزمایش‌ها استفاده شد.

زیست‌سنجی

تلفات راب‌ها در تیمار عصاره سیر با توجه به غلظت به کار برده شده در ابتدا به‌صورت ترشح میزان زیادی مواد لزج سفیدرنگ و در نهایت مرگ جانور مشاهده شد. براساس نتایج آزمایش‌های زیست‌سنجی، مقدار LC_{50} برای عصاره سیر برابر با ۲۴/۶ گرم بر لیتر برآورد شد (جدول ۲).

جدول ۱- بررسی وضعیت کرمینگ و پایداری امولسیون‌های تهیه‌شده از عصاره سیر بر اساس روش FAO

Table 1. Creaming and stability of prepared garlic extract emulsions according to FAO method

Samples	Tween 85 (g)	Span 85 (g)	Results
A-1	0.5	0	sediment 2 cm
A-2	1	0	sediment 3 cm
A-3	2	0	no sediment
A-4	3	0	no sediment
A-5	4.9	0	no sediment
B-1	0	1	no sediment
B-2	3.8	1.2	no sediment
B-3	2.7	2.3	no sediment
B-4	2.3	3	no sediment
B-5	0	4.9	no sediment

جدول ۲- برآورد LC_{50} و پارامترهای وابسته عصاره سیر روی راب *Agriolimax agrestis*

Table 2. Estimation of LC_{50} and related parameters of garlic extract on *Agriolimax agrestis*

Treatment	n*	LC_{50} (g/L) (Confidence limits 95%)	Slope ± SE	Chi-square	df
Garlic extract	240	24.6 (19.9±30.4)	1.90±0.38	1.02	3

*n= Total number of tested slugs

کارایی عصاره سیر در شرایط گلخانه

در استان مازندران تیمارهای مورد بررسی، در شرایط گلخانه در زمان‌های مختلف دو روز ($F=7.29$; $df=3,12$; $p=0.0048$)، چهار روز ($F=27.51$, $df=3,12$; $p<0.0001$)، هشت روز ($F=31.67$, $df=3,12$; $p<0.0001$)، چهارده روز ($F=57.60$, $df=3, 12$; $p<0.0001$) و بیست و یک روز ($F=93.53$, $df=3,12$; $p<0.0001$) از نظر کارایی اختلاف آماری معنی‌داری نشان دادند. تیمار عصاره سیر با غلظت دو برابر LC_{50} در روز دوم پس از تیمار تا روز بیست و یکم، به طور میانگین از ۵۵ تا ۷۱ درصد کارایی داشته و در روزهای دوم و چهارم پس از تیمار، با داشتن حروف مشترک آماری با تیمار متالدئید اختلاف معنی‌داری نداشت، اما در روزهای هشتم تا بیست و یکم پس از تیمار، در گروه‌بندی مجزا قرار گرفت (جدول ۳). بین این تیمار و تیمار فریکول® در تمام روزهای بررسی، اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشت.

جدول ۳- میانگین (±خطای معیار) کارایی تیمارهای مختلف روی راب *Agriolimax agrestis* در روزهای مختلف پس از تیمار در گلخانه ساری استان مازندران

Table 3. Mean (±standard error) efficiency of different treatments against *Agriolimax agrestis* in different days after treatment in Sari greenhouse of Mazandaran province

Treatments	mean (± SE) efficiency				
	2 days	4 days	8 days	15 days	21 days
Garlic extract*	33.3±2.7 [b]	33.3±2.7 [c]	36.6±1.9 [c]	37.1±2.8 [c]	42.3±1.5 [c]
Garlic extract **	55.0±3.1 [a]	60±2.7 [ab]	63.3±1.9 [b]	67.7±1.9 [b]	71.1±3.1 [b]
Metaldehyde	53.3±4.7 [a]	68.3±3.1 [a]	76.6±4.3 [a]	81.3±3.2 [a]	91.5±1.6 [a]
Ferricol®	41.6±4.1 [ab]	53.3±2.7 [b]	65.0±3.1 [ab]	71.1±1.5 [ab]	76.3±1.7 [b]

The treatments with the same letter in each column are not significantly different according to the Tukey´s test at 5% probability level.
* At concentration of LC_{50} (24.6 g/L), **At concentration of $2\times LC_{50}$ (49.2 g/L)

در گلخانه کرج استان البرز نیز بین تیمارهای مورد بررسی، در زمان‌های مختلف دو روز ($F=12.34$; $df=3,12$; $p=0.0006$)، چهار روز($F=24.46$, $df=3,12$; $p<0.0001$)، هشت روز (; $F=35.47$, $df=3,12$; $p<0.0001$)، چهارده روز ($F=24.46$, $df=3$, 12; $p<0.0001$) و بیست و یک روز ($F=40.92$, $df=3,12$; $p<0.0001$) اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشت. در این منطقه عصاره سیر با غلظت دو برابر LC_{50} در روز دوم پس از تیمار تا روز بیست و یکم، به طور میانگین از ۵۶ تا ۷۶ درصد کارایی داشته است (جدول ۴). در تمام روزهای بعد از تیمار به غیر از روز بیست و یکم، بین میزان کارایی تیمار عصاره سیر دو برابر و متالدئید با داشتن حرف مشترک آماری، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. اما در روز بیست و یکم آزمایش، هر چند کارایی تیمار عصاره سیر با غلظت دو برابر، نسبت به روز پانزدهم افزایش نشان داد، اما این افزایش نسبت به تیمار متالدئید از شدت کمتری برخوردار بود و بنابراین، این دو تیمار در گروه مجزای آماری قرار گرفتند. در همه روزهای آزمایش، دو تیمار عصاره سیر با غلظت دو برابر و فریکول® در یک گروه آماری طبقه‌بندی شدند.

جدول ۴- میانگین (±خطای معیار) کارایی تیمارهای مختلف روی راب *Agriolimax agrestis* در روزهای مختلف پس از تیمار در گلخانه کرج استان البرز

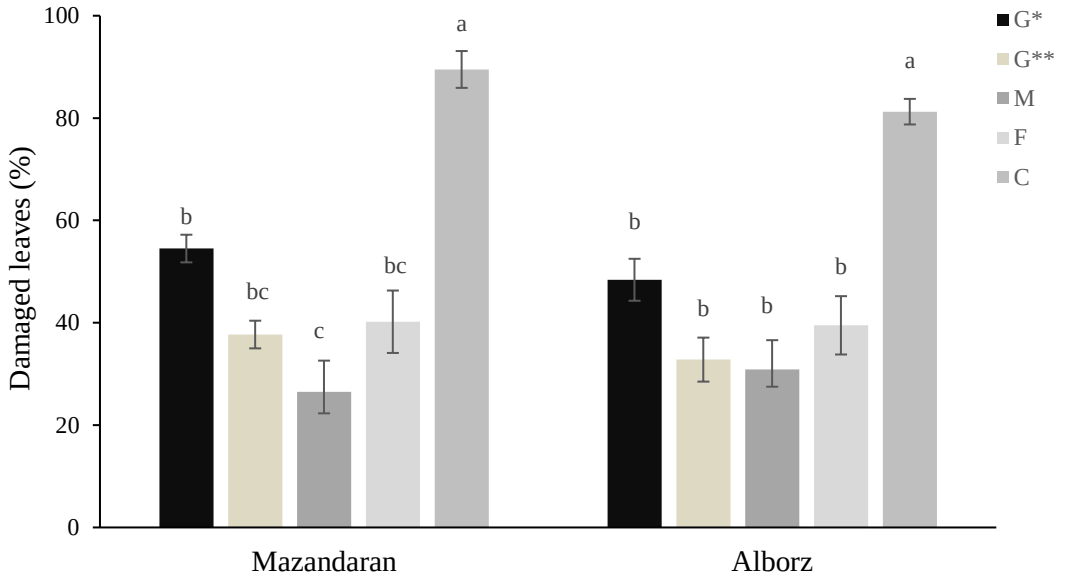
Table 4. Mean (±standard error) efficiency of different treatments against *Agriolimax agrestis* in different days after treatment in Karaj greenhouse of Alborz province

Treatments	Mean (± SE) efficiency				
	2 days	4 days	8 days	15 days	21 days
Garlic extract*	26.6±2.7 [b]	33.3±2.7 [c]	38.3±3.1 [c]	42.2±4.6 [c]	45.5±4.5 [c]
Garlic extract**	56.6±1.9 [a]	61.6±3.1 [ab]	66.6±2.7 [ab]	72.8±2.7 [ab]	76.3±1.7 [b]
Metaldehyde	55.0±5.6 [a]	68.3±1.6 [a]	75.0±1.6 [a]	81.3±1.8 [a]	89.7±2.0 [a]
Ferricol®	43.3±4.3 [a]	51.6±4.1 [b]	60.0±2.7 [b]	64.2±3.6 [b]	69.4±2.3 [b]

The treatments with the same letter in each column are not significantly different according to the Tukey´s test at 5% probability level. * 24.6 g/L (LC_{50}), ** 49.2 g/L ($2\times LC_{50}$)

درصد خسارت برگ در بین تیمارها در استان‌های مازندران ($F=30.78$, $df=4,15$; $p<0.0001$) و البرز ($F=24.82$, $df=4,15$; $p<0.0001$) اختلاف معنی‌داری داشت. در استان مازندران، تیمار کاهو با عصاره سیر در غلظت دو برابر LC_{50} با ایجاد ۳۷/۷ درصد خسارت توسط راب در روز بیست و یکم آزمایش با دو تیمار متالدئید و فریکول® به‌ترتیب با ۲۶/۵ و ۴۰/۲ درصد خسارت، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشت. اما خسارت ایجادشده روی کاهوهای شاهد به طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها برآورد شد. عصاره سیر در غلظت یک برابر نیز متفاوت از

متالدئید طبقه‌بندی شد (شکل ۱). در استان البرز، بین درصد خسارت ایجاد شده توسط راب در تیمارهای عصاره سیر یک و دو برابر، متالدئید و فریکول® تفاوت آماری مشاهده نشد، اما شاهد با ایجاد ۸۱/۲۵ درصد خسارت در گروه متفاوت آماری قرار گرفت (شکل ۱). شایان ذکر است که در صورت حضور راب‌ها روی گیاه و پاشش محلول حاوی عصاره سیر، علائم تغذیه راب‌های زنده مانده بیشتر به صورت سوراخ‌های خوردگی روی برگ‌ها مشاهده شد، در حالی که در شاهد در بسیاری از گلدان‌ها، راب‌ها تمام قسمت‌های برگ را مورد تغذیه قرار دادند، به‌طوری‌که تنها رگبرگ‌ها بر جای مانده بود.



شکل ۱- میانگین (±خطای معیار) درصد برگ‌های خسارت دیده کاهو توسط راب *Agriolimax agrestis* در تیمارهای عصاره سیر، فریکول® و متالدئید در مقایسه با شاهد در روز بیست و یکم پس از تیمار در گلخانه استان‌های مازندران و البرز

Figure 1. Mean (± SE) percentage of lettuce leaves damaged by *Agriolimax agrestis* in garlic exteract, Ferricol®, and metaldehyde treatments compared with control 21 days after treatment in the greenhouse of Mazandaran and Alborz provinces. G*= Garlic exteract at 24.6 g/L (LC_{50}), G**=Garlic exteract at 49.2 g/L ($2\times LC_{50}$), M=Metaldehyde, F=Ferricol®, C=Control

بحث

در حال حاضر برای مبارزه با راب‌ها در کشور به ویژه نواحی شمالی به دلیل شرایط خاص اقلیمی که مساعد برای رشد و تکثیر این گونه آفات است، از مبارزه شیمیایی استفاده می‌شود. کاربرد گسترده انواع سموم شیمیایی به علت صرفه اقتصادی، سهولت دسترسی، کارایی مطلوب (عملکرد آن‌ها در کنترل، به‌سرعت قابل‌مشاهده است) و انعطاف‌پذیری با طیف اثر وسیع و پایداری زیاد طی دهه‌های اخیر، بشر را با بحران رو به رو ساخته است (Barker, 2002). یکی از خط مشی‌های اساسی، استفاده از راب‌کش‌های زیست‌پایه یا گیاهی برای کنترل آفات به منظور کاهش استفاده از سموم شیمیایی در بخش کشاورزی می‌باشد. راب‌کش‌های گیاهی اغلب دارای پایداری کمی بوده و برخلاف راب‌کش‌های شیمیایی موجب بروز مقاومت در آفات نمی‌شوند (Kumar & Das, 2022). استفاده از عصاره گیاهان با خاصیت آفت-کشی یا دورکنندگی به علت تجزیه سریع‌تر و عدم بروز مقاومت از دیرباز مورد توجه بشر بوده است (Al-Azzawi & Banna, 1980; McCullough *et al*., 1980).

گستردگی کشت بوته‌های سیر در نواحی مختلف کشور و اهمیت بالقوه آن در مبارزه با آفات گیاهان در سال‌های اخیر

مورد توجه بیشتری قرار گرفته است. تاثیر عصاره سیر در ایران، علیه گونه‌های بومی راب‌ها تاکنون بررسی نشده است. بنابراین، با استفاده از روش‌های مختلفی که در ارزیابی میزان سمیت آفت‌کش‌ها (شیمیایی یا گیاهی) علیه راب‌ها توصیه شده، اقدام به تحقیق مورد اشاره شد.

طبق نتایج زیست‌سنجی پژوهش حاضر، عصاره سیر دارای پتانسیل ایجاد تلفات روی جانور *A. agrestis* می‌باشد. با کاربرد مستقیم عصاره سیر روی راب مشاهده شد که این جانور حرکات غیرعادی از خود نشان داده و دچار بی‌قراری و پیچش بدن می‌شود. سپس مقدار زیادی ماده لزج (موکوس) از خود ترشح می‌کند که منجر به فلج عضلانی و سرانجام مرگ جانور می‌شود. نظیر این تغییرات رفتاری در بررسی تاثیر عصاره سیر روی حلزون *Pomacea canaliculata* Lamarck نیز مشاهده و گزارش شده است (Picardal *et al*., 2018). به نظر می‌رسد ترشح زیاد ماده سفید رنگ چسبنده در نتیجه واکنش غشای مخاطی جانور به ترکیبات قطبی مانند اوژنول، استرها و نظیر آن‌ها باشد. ترکیب آلیسین موجود در سیر یک تحریک‌کننده قوی بوده و ممکن است باعث تحریک غشای مخاطی جانور شود (Aladesanmi, 2007). بررسی منابع نشان می‌دهد که عصاره سیر دارای اثر سمی روی شکم‌پایان است. عصاره سیر در غلظت ۵۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر روی راب گونه *D. panormitanum* و حلزون *O. pfeifferi*، ۳۰ تا ۵۰ درصد تلفات ایجاد کرد (Singh & Singh, 1995; 1996). کلین و همکاران (Klein *et al*., 2019) گزارش کردند که عصاره سیر، در غلظت حجمی یک درصد، ۱۰۰ درصد کشندگی روی راب بالغ گونه *D. reticulatum* داشته است. همچنین اسانس برگ سیر سمیت بالایی روی حلزون *Lymnaea acuminata* Lamarck ایجاد کرد (Tiwari, 2022). علت اصلی تلفات به‌دلیل حضور ترکیب آلیسین در سیر بیان شده که به‌عنوان یک عامل موثر ایجاد تلفات در راب‌ها شناخته شده است (Singh & Singh, 1995). زیرا آلیسین، فعالیت آنزیم‌های استیل کولین استراز، لاکتیک دهیدروژناز و آلکالین فسفاتاز را مهار می‌نماید (Sierotzki & Scalliet, 2013). تفاوت‌ها در میزان کشندگی عصاره مذکور در منابع مختلف ممکن است به عوامل گوناگونی از جمله تفاوت در اجزای شیمیایی یا ترکیبات موجود در عصاره، نوع و گونه جانور مورد آزمایش، غلظت آزمایش شده، مرحله زیستی و وزن جانور در زمان آزمایش و روش آزمایش وابسته باشد. همانطور که اشاره شد آزمایش زیست‌سنجی، روی راب‌های *A. agrestis* در محدوده وزنی ۰/۵ تا ۰/۷ گرم که به ترکیب عصاره سیر واکنش نشان داده‌اند، اجرا شده است. شایان ذکر است که راب‌های جوان نسبت به راب‌های بالغ به دلیل داشتن جثه ریزتر و وزن کم‌تر و در نتیجه احتمال حساس‌تر بودن، عکس‌العمل بیشتری به تیمار با این ترکیب نشان می‌دهند؛ بنابراین، کاربرد ترکیبات سمی در زمان مناسب و متناسب با مرحله زیستی حساس جانور به اثرگذاری بیشتر و نتیجه بهتر منجر خواهد شد.

در بررسی میزان تأثیر عصاره سیر (دو برابر LC_{50}) در شرایط گلخانه، از روز دوم تا بیست و یکم آزمایش در هر دو استان، بین ۵۵ تا ۷۶ درصد کارایی مشاهده شد. هرچند در روز بیست‌ویکم، کارایی این تیمار و تیمار فریکول® به یک اندازه بود، اما در مقایسه با متالدئید به طور معنی‌داری کمتر بود. با وجود این، بررسی میزان تغذیه در تیمار عصاره سیر نشان داد که تغذیه در این تیمار در مقایسه با شاهد به طور چشمگیری کاهش یافته است. کاهش تعداد راب‌ها در نتیجه تلفات با عصاره سیر به روش پاشش مستقیم روی راب‌های فعال روی گیاه، به دلیل تغذیه کم‌تر و همچنین خاصیت دورکنندگی باعث کاستن از میزان خسارت شده است. عصاره سیر دارای ترکیبات گوگردی از قبیل دی آلیل دی سولفید، دی آلیل تری سولفید و متیل آلیل تری سولفات است. دی آلیل دی سولفید بوی تندی دارد و به‌عنوان یک حشره‌کش قوی عمل می‌کند (Kazem-El & Shereif, 2010). در این پژوهش، میزان خسارت راب به برگ‌های تیمار نشده کاهو حدود ۸۰ تا ۹۰ درصد برآورد شده که در تأیید با میزان خسارت اقتصادی وارده توسط این جانور به علت عادت پرخوری است (Clement, 2006). با وجود عدم اختلاف معنی‌دار بین درصد خسارت راب به برگ‌های

تیمار شده با دو غلظت عصاره سیر، در غلظت بالاتر خسارت کمتری مشاهده می‌شود که نشان می‌دهد ارتباط مستقیمی بین غلظت و اثر آن وجود دارد (Picardal *et al*., 2018). به‌طوری‌که در راب *D. laeve* Müller با افزایش غلظت عصاره سیر از یک به دو درصد، درصد مصرف توده برگ کاهش یافت (Dankowska, 2005).

در مجموع، با توجه به آزمایش‌های انجام شده و نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر، می‌توان از ترکیب سیر با غلظت دو برابر LC_{50} روی گیاه کاهو بدون احتمال گیاه-سوزی استفاده کرد. ترکیب مذکور روی راب‌های با وزن تقریبی زیر یک گرم (بر اساس محدوده وزنی آزمایش‌شده) به طور قابل توجه باعث تلفات و کاهش تغذیه می‌شود. این وضعیت تا ۲۱ روز از کاربرد به طور تقریبی کارایی بیش از ۷۰ درصد را موجب می‌شود. هرچندکاربرد طعمه متالدئید نسبت به ترکیبات مذکور نقش مؤثرتری در کنترل آفت داشت و در پایان آزمایش، کارایی قابل ملاحظه‌ای (در حدود ۹۰ درصد) ایجاد کرد، اما در برنامه‌های مدیریت کنترل راب *A. agrestis* روی سبزیجات برگی پیشنهاد می‌شود که از ترکیب گیاهی عصاره سیر در راستای کاهش مصرف طعمه مسموم متالدئید استفاده شود. کاربرد ترکیب مذکور در گلخانه به‌خصوص زمانی‌که بیشتر جمعیت فعال در آن محیط را جانورانی تشکیل می‌دهند که در اوایل مرحله رشدی (مرحله نابالغ) قرار داشته و تغذیه پایین‌تری دارند، مؤثرتر است. همچنین برای بهره‌گیری بیشتر از خاصیت کشندگی و ضدتغذیه‌ای عصاره مذکور، تکرار محلول‌پاشی پس از سه هفته از کاربرد اولیه پیشنهاد می‌شود. منشاء گیاهی این عصاره و بومی و کم خطر بودن آن برای محیط زیست، می‌توان استفاده از این ترکیب را در مبارزه با راب گلخانه که تهدیدی جدی برای گلخانه‌ها به‌ویژه در استان‌های شمالی کشور محسوب می‌شود، به عنوان جزئی از برنامه مدیریت تلفیقی مود توجه قرار داد. بررسی‌های تکمیلی در خصوص بررسی اجزای شیمیایی عصاره و اجرای آزمایش در شرایط مزرعه نیز توصیه می‌شود.

سپاسگزاری

از مدیریت محترم موسسهٔ تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور (به جهت پشتیبانی و تأمین هزینه‌های اجرای پروژه)، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مازندران، آزمایشگاه تحقیقاتی کرج، خانم‌ها دکتر فاطمه فدوی، مهندس مینا ازهاری، مهندس نسیم آقایی دلچه وسایر همکاران محترمی که در طول اجرای پروژه نهایت همکاری را داشته‌اند تشکر و قدردانی می‌شود.

References

Aladesanmi A. (2007). Tetrapleura tetraptera: Molluscicidal activity and chemical constituents. *African Journal of Traditional Complementary and Alternative Medicine*, 4(1): 23–36. **DOI:10.4314/ajtcam.v4i1.31189**

Al-Azzawil, H. T., & Banna, H. B. (1980). Some enzyme histoehemical study on certain mouse tissues after 'Bayluscide administration, Proceedings of the 10th International Congress of Tropical Medicine and Malaria, pp. 355.

Barker, G.M. (2002). Molluscs as crop pests. CABI Publishing. 468 pages.

Barua, A., McDonald-Howard, K. L., Mc Donnell, R. J., Rae, R., & Williams, C. D. (2020). Toxicity of essential oils to slug parasitic and entomopathogenic nematodes. *Journal of Pest Science*, *93*(2), 1411–1419. **DOI: 10.1007/s10340-020-01251-5**

Capinera, J. L. (2018). Evaluation of copper hydroxide as a repellent and feeding deterrent for Cuban brown snail (Mollusca: Gastropoda: Pleurodontidae). *Florida Entomologist*, *101*(3), 369-372. **DOI.org/10.1653/024.101.0326**

Chopa, C. S., & Descamps, L. R. (2012). Composition and biological activity of essential oils against *Metopolophium dirhodum* (Hemiptera: Aphididae) cereal crop pest. *Pest Management Science, 68*, 1492-1500. **DOI:http://dx.doi.org/10.1002/ps.3334**

Clemente, N. (2006). Biología de *Deroceras reticulatum* (Mollusca, Pulmonata: Agrolimacidae) y su manejo en el cultivo de girasol en siembra directa. M.Sc. thesis. Universidad Nacional de Mar del Plata (UNMdP), Balcarce, Argentina.

Dankowska, E. (2005). Deterrent effect of plant infusions on Derpoceras leave (Muller, 1774). *Folia Malacologica, 13*(3), 105-108. **DOI:http://dx.doi.org/10.12657/folmal.013.010**

Desouky, M. A., Abd El-Atti, M. S., Elsheakh, A. A., & Elgohary, W. S. (2022). Effect of *Eucalyptus globulus* oil and *Ricinus communis* methanolic extract as potential natural molluscicides on the reproductive biology and some antioxidant enzymes of the land snail, *Theba pisana. National Library Medicine, 8*(12), e12405. **DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e12405**

Eskandari, T., Ashrafipour, R. A., Yadollahi, A. A., Tohidi, F., & Borzooei, F. (2008). Statistical investigation of the consumption of agricultural pesticides in the cities of the Mazandaran province. Second Conference of Environmental Engineering, Tehran University, pp. 1-7.

Farag, M. F. N. G. (2017). Efficacy of some plant seeds against the glassy clover snail, *Monacha cartusiana* (Müller). *Journal of Plant Protection and Pathology, 8*(11), 591–597. **DOI: http://dx.doi.org/10.21608/JPPP.2017.46866**

Kazem, M. G., & El-Shereif, S. A. E. H. N. (2010). Toxic effect of capsicum and garlic xylene extracts in toxicity of boiled linseed oil formulations against some piercing sucking cotton pests. *American Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science, 8*(4), 390-396.

Khater, H. F. (2012). Prospects of botanical biopesticides in insect pest management. *Pharmacologia, 3*(12), 641-656. **DOI:http://dx.doi.org/10.5567/pharmacologia.2012.641.656**

Klein, M. L., Chastain, T. G., Garbacik, C. J., Qian, Y. P. L., & Mc Donnell, R. J. (2019). Acute toxicity of essential oils to the pest slug *Deroceras reticulatum* in laboratory and greenhouse bioassays. *Journal of Pest Science, 93*(1), 415-425. **DOI:http://dx.doi.org/10.1007/s10340-019-01154-0**

Klein, M. L., Chastain, T. G., Garbacik, C. J., & McDonnell, R. J. (2018). Can Essential Oils be used to control the gray field slug? Seed Production Research at Oregon State University, 29-32 pp.

Kumar Das, B. (2022). Efficacy of some plant derived molluscicides for controlling pestiferous slug, *Laevicaulis alte* in Odisha. *Journal of Emerging Technologies and Innovative Research, 9*(7), 468b-478b.

Kumar, E.S., Vieira, M., & Chloe, D. (2018). Identification of plant extracts and oils as insect repellents. *BEMS Reports, 4*(2), 23-30. **DOI: http://dx.doi.org/10.5530/bems.4.2.7**

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

McCullough, F. S., Gayral, P., Duncan, J., & Christie, J. (1980). Molluseieides in schistosomiasis control. *Bulletin of the World Health Organization, 58*, 681.

Picardal, M., Panlaan, K., Castaño1, P., Peña, L., Abella, K., & Picardal, J. (2018). Molluscicidal activity of the aqueous extract of garlic (*Allium sativum* L.) bulb against golden apple snail (*Pomacea canaliculata* L.) *International Journal of Biosciences, 13*(2), 75-87. **DOI:http://dx.doi.org/10.12692/ijb/13.2.75-87**

Robertson, J. L., & Preisler, H. K. (1992). "Pesticide Bioassays with Arthropods," CRC, Boca Ratn.

Schuder, I., Port, G., & Bennison, J. (2003). Barriers repellents and antifeedants for slug and snail control. *Crop Protection, 22*, 1033-1038. **DOI:10.1016/S0261-2194(03)00120-0**

Shekari, M., Jalali Sendi, J., Etebari, K., Zibaee, A., & Shadparvar, A. (2008). Effects of *Artemisia annua* L. (Asteracea) on nutritional physiology and enzyme activities of elm leaf beetle, *Xanthogaleruca luteola* Mull. (Coleoptera: Chrysomellidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology, 91*, 66-74. **https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2008.01.003**

Sierotzki, H., & Scalliet, G. (2013). A review of current knowledge of resistance aspects for the next-generation succinate dehydrogenase inhibitor fungicides. *Phytopathology, 103*, 880–887.**DOI:http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO-01-13-0009-RVW**.

Silva, L., Souza, B., Cristina de Almeida Bessa, E., & Pinheiro, J. (2012). Effect of successive applications of the sublethal concentration of *Solanum paniculatum* in *Subulina octona* (Subulinidae). *Journal of Natural Products, 5*, 157-167.

Singh, V., & Singh, D. (1995). Characterization of allicin as a molluscicidal agent in *Allium sativum* (garlic). *Biological Agriculture & Horticulture*, *12*, 119–131. **DOI: https://doi.org/10.1080/01448765.1995.9754732**

Singh, D., & Singh, V. (1996). Enzyme inhibition by allicin, the molluscicidal agent of *Allium sativum* L. (garlic). *Phytotherapy Research, 10*, 383–386.

Singh, K., & 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. **DOI: https://doi.org/ 10.1007/s002449910024**

Srivastava, P. D. (1992). Problem of land snail pest in agriculture: A study of giant African snail. Concept Publishing Company, New Delhi, pp. 234.

Tiwari, F. (2022). Molluscicidal effect of essential oils from plant origin against the vector snail *Lymnaea acuminata*. *Annals of Plant Sciences*, *11*(2), 4797-4801. **DOI: http://dx.doi.org/10.21746/aps.2022.11.2.11**

Zala, M. B., Sipai S. A., Bharpoda T. M., & Patel B. N. (2018). Molluscan pests and their management: A review. *AGRES- An International e. Journal*, *7*(2), 126–132.

Plant Pest Research
2024- 14 (2): 95-106

Open access
doi: 10.22124/iprj.2024.27983.1584
pISSN: 2322-2409
eISSN: 2538-6123

Research paper

Effect of garlic extract emulsion on the slug *Agriolimax agrestis* in lettuce greenhouse

E. Ahmadi [1]*, M. Gholamzadeh Chitgar[2] and B. Heidary Alizadeh[3]

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

1. 0000-0002-8106-7391, 2. 0000-0002-7756-1610, 3. 0000-0002-4115-743X

(Received: July 22, 2024- Accepted: September 20, 2024)

Abstract

The effectiveness of garlic extracts 50% emulsion on *Agriolimax agrestis* in lettuce greenhouses of Mazandaran (Sari) and Alborz (Karaj) provinces was evaluated in the completely randomized statistical design. A bioassay test was performed on immature slugs of the same age weighing 0.5 to 0.7 grams and their mortality percentage was determined after 24 hours and the LC_{50} value was estimated. Efficiency evaluation experiments were done in the greenhouse with treatments: 1) garlic extract (in two concentrations of 1 and 2 times of LC_{50}, 2) mineral molluscicide, Ferricol® (5 g/m^2), 3) Chemical molluscicides, Lumakidin 5G® (0.7 g/m^2), and control. Based on the results of bioassay test, the LC_{50} value for garlic extract was estimated as 24.6 g/L. In the greenhouse, with the increase in the concentration of the extracts, the effectiveness percentage increased. The average efficacy of garlic extract treatment with twice the LC_{50} concentration in two provinces after two, four, eight, fifteen, and twenty-one days were calculated 55.8±2.5, 60.8±2.9, 64.9±2.3, 70.2 ±2.3, and 73.7±2.4 percent, respectively. Although this efficiency was significantly lower on the 21st day compared to metaldehyde, the results show that garlic extract is able to cause mortality in immature slug population. In the garlic extract treatment, the estimated amount of damage on the 21st day of the experiment in Mazandaran and Alborz provinces (37.7% and 32.8%, respectively) was significantly lower than the control (89.5% and 81.2%, respectively). Therefore, in order to reduce the application and adverse effects of chemical pesticides, the use of alternation of garlic extract and other molluscicides is recommended in *A. agrestis* management programs.

Key words: Bioassay, Garlic extract, Lettuce, Slug

*Corresponding Author: e1_ahmadi@yahoo.com