تحقیقات آفات گیاهی
۱۴۰۰ -۱۱(۱): ۵۷-۶۹

علمی پژوهشی

مدیریت تلفیقی راب خاکستری *Parmacella ibera* به‌وسیله نماتد *Phasmarhabditis hermaphrodita*، متالدهید و فریکول در صومعه‌سرا، استان گیلان

محمدحسین اکبری‌اصل* و سیّدعلی صفوی
گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۳/۱)

چکیده

آفت‌کش‌های بیولوژیک مزیت‌هایی بر سموم شیمیایی دارند که از مهم‌ترین آن‌ها ایمن بودن برای موجودات غیرهدف است. راب‌ها توسط تعداد فراوانی از موجودات زنده از جمله نماتدها پارازیته و یا شکار می‌شوند. در این پژوهش، مدیریت تلفیقی راب خاکستری *Parmacella ibera* توسط نماتد *Phasmarhabditis hermaphrodita*، متالدهید و فریکول در منطقه صومعه‌سرا استان گیلان بررسی شد. تیمارهای مختلف شامل شاهد،کاربرد یک مرتبه غلظت توصیه شده نماتد در ابتدای فصل،کاربرد تلفیقی یک مرتبه غلظت توصیه شده نماتد در ابتدای آزمایش و استفاده از فریکول یک هفته بعد از آن،کاربرد دو مرتبه نیم‌غلظت نماتد در ابتدا و یک هفته پس از آن وکاربرد تلفیقی یک مرتبه نیم غلظت نماتد در ابتدای آزمایش و یک مرتبه نیم غلظت متالدهید یک هفته بعد روی راب *P. ibera* بر اساس درصد راب‌های مرده، میانگین درصد خوردگی برگ، تعداد برگ‌های دارای علایم خوردگی و تعداد بوته‌های دارای برگ‌های خورده شده در هر کرت ارزیابی شد. نتایج نشان داد که بالاترین میانگین درصد مرگ و میر راب‌ها در تیمار استفاده از نیم‌غلظت نماتد و متالدهید به‌دست آمد. درصد خوردگی برگ بین دو تیمار نماتد + فریکول و نماتد + متالدهید تفاوت معنی‌داری نداشتند و این دو تیمار بهترین عملکرد را در این خصوص نشان دادند. نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان می‌دهد تیمار یک مرتبه نیم‌غلظت نماتد در ابتدای آزمایش و یک مرتبه نیم‌غلظت متالدهید یک هفته بعد از آن، در تمام صفت‌های مورد بررسی تاثیر قابل ملاحظه‌ای داشته و توانسته است علاوه بر کنترل آفت، میزان خسارت آن را کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: نماتد، راب، آفت‌کش، متالدهید، فریکول

نویسنده مسئول: ipm_gharb90@yahoo.com

مقدمه

راب‌ها آفات مهمی در تعداد زیادی از محصولات کشاورزی در تمام دنیا هستند (Godan, 1979; Port and Port, 1986; South, 1992) و در حال حاضر یکی از تهدیدهای مهم کشاورزی محسوب می‌شوند (Barker, 2002). آن‌ها از محصولات مزرعه‌ای و باغچه‌ای (مانند سبزیجات برگی)، گیاهان زینتی (مانند پیاز گل‌ها)، گلخانه‌ای، دانه‌ها، جوانه‌ها و قارچ‌ها نیز تغذیه می‌کنند. راب‌ها خسارت‌هایی شامل ناهمواری برگ، سوراخ‌های نامنظم، ساقه‌های باریک و مسیرهای چسبناک ایجاد می‌کنند که تغذیه گسترده آن‌ها می‌تواند سبب تنش و مرگ گیاه شود (Nielsen, 1997). سبزیجات برگی مانند کاهو و کلم بیشتر مورد حمله و تهدید قرار می‌گیرند که با مواد لزج و فضولات‌شان آنها را آلوده می‌کنند (Port and Ester, 2002). در اروپا گندم و دانه‌های روغنی مهم‌ترین محصولاتی هستند که خسارت می‌بینند، اما خسارت چغندر قند در برخی نقاط بیشتر است (Ester and Wilson, 2005). راب خاکستری *Parmacella ibera* Eichwald (Gastropoda: Parmacellidae) یکی از نرم‌تنان آفت مهم در ایران به‌ویژه در مناطق شمالی کشور است (Yakhchali *et al.*, 2013). روش‌های معمول کنترل آفت راب شامل استفاده از متالدهید یا کاربامات‌ها (متیوکارب و تیودیکارب) است (Henderson and Triebskorn, 2002). استفاده از این مواد مشکلات متعددی را به وجود می‌آورد و می‌تواند روی موجودات زنده غیرهدف مضر بوده و برای مهره‌داران سمی باشد (Fletcher *et al.*, 1999). حتی متیوکارب برای بی‌مهرگان مفید مانند سوسک‌های خاک‌زی (Carbide) نیز سمی است (Purves and Bannon, 1992).

گرچه سموم شیمیایی در از بین بردن راب‌ها مؤثر هستند، ولی استفاده بی‌رویه از آنها می‌تواند سبب بروز عوارض نامطلوب برای سایر موجودات زنده و نیز آسیب‌های جبران‌ناپذیر زیست محیطی شود. آفت‌کش‌های بیولوژیک مزیت‌هایی بر سموم شیمیایی دارند که مهم‌ترین آن ایمن بودن این آفت‌کش‌ها برای موجودات غیرهدف است. راب‌ها توسط تعداد فراوانی از موجودات زنده از جمله نماتدها پارازیته و یا شکار می‌شوند. نماتد *Phasmarhabditis hermaphrodita* Schneider (Rhabdidita: Rhabditidae) برای کاهش خسارت راب در تعدادی از محصولات کشاورزی مانند دانه‌های روغنی، گندم زمستانه و همچنین محصولات با ارزش مثل توت فرنگی، کلم، مارچوبه و کلم بروکلی مورد استفاده قرار گرفته است. در بریتانیا، تولیدکنندگان تجاری محصولات کشاورزی برای کاهش خسارت راب در تولید کاهو، کلم بروکلی، کلم و کرفس به طور معمول از این نماتد استفاده می‌کنند (Wilson *et al.*, 1994; Ester *et al.*, 2003).

در سال ۱۹۹۴ نماتد *P. hermaphrodita* به عنوان عامل کنترل بیولوژیک برای کنترل راب‌ها تجاری‌سازی شد (Glen *et al.*, 1996) در اروپا به عنوان یک عامل کنترل بیولوژیک حلزون‌کش با نام تجاری Nemaslug® فروخته می‌شود (Rae *et al.*, 2007). این نماتد انگل اختیاری راب‌ها است که از طریق مجاری طبیعی به بدن آن‌ها نفوذ می‌کند و میزبان را در فاصله ۷ تا ۲۱ روز می‌کشد و سپس، نماتدها از لاشه راب تغذیه می‌کنند (Wilson *et al.*, 1993; Tan and Grewal, 2001). این نماتد می‌تواند چندین گونه از راب‌ها و حلزون‌ها را آلوده کند و در کنترل راب خاکستری نیز موثر است (Wilson et al. 1993; Wilson *et al.*, 2000). برخی پژوهشگران گزارش کرده‌اند که این نماتد می‌تواند با جلوگیری از تغذیه راب و حتی بدون ایجاد مرگ و میر در آن نیز سبب کاهش قابل توجه خسارت به گیاه شود (Glen *et al.*, 1996; Rae *et al.*, 2006).

نماتد *P. hermaphrodita* می‌تواند رفتار راب‌ها را اداره کند. راب‌هایی که توسط این نماتد آلوده می‌شوند در تله‌های پناهگاهی بیشتر دیده می‌شوند (Wilson *et al.*, 1994)، تغذیه آنها کاهش یافته (Glen *et al.*, 2000) و قبل از تلف شدن به عمق بیشتری از خاک می‌روند (Pechova and Foltan, 2008) و خیلی آهسته‌تر از معمول حرکت می‌کنند (Bailey et al., 2003). راب‌ها از حضور در مناطقی که نماتد وجود دارد اجتناب می‌کنند (Wilson *et al.*, 1999; Wynne *et al.*, 2016).

همچنین، حلزون‌کش جدیدی بر پایه فسفات آهن به نام فرامول[1] در تعداد زیادی از کشورهای اروپایی نیز به ثبت رسیده و انتظار می‌رود به‌ویژه در کشاورزی ارگانیک مورد استفاده قرار گیرد (Iglesias and Speiser, 2001). این ترکیب یک محصول سازگار با محیط زیست است و در آزمایش‌هایی که در سوئیس در سال ۱۹۹۹ انجام شد، تاثیر مناسبی داشته است (Speiser *et al*., 2002). این ترکیب به شکل گرانول وجود دارد و با طعمه مخلوط شده و اطراف گیاهان پخش می‌شوند. این محصول سمیت خیلی کمی برای پستانداران دارد و هنگامی که علیه راب ها استفاده می‌شود، از تغذیه جلوگیری کرده و سبب مرگ آنها می‌شود (Speiser *et al*., 2002; Rae *et al*., 2009).

در این تحقیق، با توجه به ضرورت تولید ایمن محصولات سبزی و صیفی که مصرف تازه‌خوری دارند و برای حفظ محیط زیست، تاثیر استفاده از نماتد بیماری‌زای نرم‌تنان *P. hermaphrodita* در تلفیق با سایر روش‌های مهم و مرسوم برای کنترل راب *P. ibera* در تولید کاهو مورد بررسی قرار می‌گیرد.

مواد و روش‌ها

آزمایش در مزرعه‌ای در محدوده شهرستان صومعه سرا در استان گیلان (مختصات جغرافیایی X:338115, Y:4138441) و در زمینی به مساحت ۱۰۰ متر مربع در یک دوره چهار هفته‌ای از تاریخ ۹۹/۲/۷ تا تاریخ ۹۹/۳/۳ انجام گرفت. تعداد ۱۵ عدد کرت چهار متر مربعی آماده و در هر کرت تعداد ۱۴ عدد نشا کاهو در دو ردیف (۲×۷ متر) کشت شد. آزمایش به صورت طرح بلوک کامل تصادفی در ۳ تکرار در مزرعه انجام گرفت. فرم تجاری نماتد *P. hermaphrodita* با نام Nemaslug® (MicroBio Ltd., Cambridge, UK) و فرم تجاری فسفات آهن با نام فریکول (کیمیا سبزآور) (LD_{50} ≥5000 mg/kg) و همچنین، فرم تجاری متالدهید با نام متالانجی (آریا شیمی) (LD_{50} = 283 mg/kg) تهیه شد. فرم‌های تجاری نماتد، فسفات آهن و متالدهید با غلظت‌های توصیه شده تهیه و در هر کرت به کار رفت و تاثیر این کنترل به مدت چهار هفته مورد ارزیابی قرار گرفت. قبل از شروع آزمایش تعداد راب‌های زنده *P. ibera* در هر کرت مشخص شد. تیمارها شامل ۱- شاهد، ۲-کاربرد یک مرتبه غلظت توصیه شده نماتد ابتدای آزمایش، ۳- کاربرد تلفیقی یک مرتبه غلظت توصیه شده نماتد در ابتدای آزمایش و استفاده از فریکول یک هفته بعد از آن، ۴-کاربرد دو مرتبه نیم غلظت نماتد (۲/۲۵ گرم در متر مربع) در ابتدای آزمایش و یک هفته پس از آن، ۵- کاربرد تلفیقی یک مرتبه نیم غلظت نماتد در ابتدای آزمایش و یک مرتبه نیم غلظت متالدهید یک هفته بعد بودند. بر اساس غلظت توصیه شده، نماتد به مقدار ۴/۵ گرم در هر مترمربع به کار رفت. فریکول و متالدهید به ترتیب ۴ و ۲/۵ گرم در هر متر مربع استفاده شدند. اندازه‌گیری مقدار نماتد، فریکول و متالدهید توسط ترازوی دیجیتال انجام و مقادیر مشخص بر اساس برنامه زمانی به کار برده شدند. به دلیل فعالیت شبانه راب‌ها و نیز جلوگیری از تاثیر مخرب نورخورشید روی نماتدها، محلول‌پاشی کرت-ها با نماتد و استفاده از فریکول و متالدهید در زمان غروب آفتاب انجام شد.

به صورت روزانه در هر کرت تعداد راب‌های زنده، تعداد برگ‌های دارای علایم خوردگی، تعداد بوته‌های دارای علایم خوردگی شمارش و درصد کاهش (خوردگی) سطح برگ‌ها (Iglesias *et al*., 2001) اندازه‌گیری و به صورت هفتگی تجمیع شد. داده‌ها قبل از تجزیه آماری به صورت درصد محاسبه و برای نرمال شدن به زاویه تغییر یافتند. درصد کارایی تیمارهای مختلف با فرمول هندرسون – تیلتون و در هر مورد بر اساس تلفات راب‌ها در شاهد تصحیح و محاسبه شد (Henderson and Tilton, 1955). در رابطه زیر، Ta و Tb تعداد راب‌های زنده در قطعات تیمار به ترتیب قبل و بعد از سمپاشی و Cb و Ca تعداد راب‌های زنده در قطعات شاهد به ترتیب قبل و بعد از آب‌پاشی صورت گرفت:

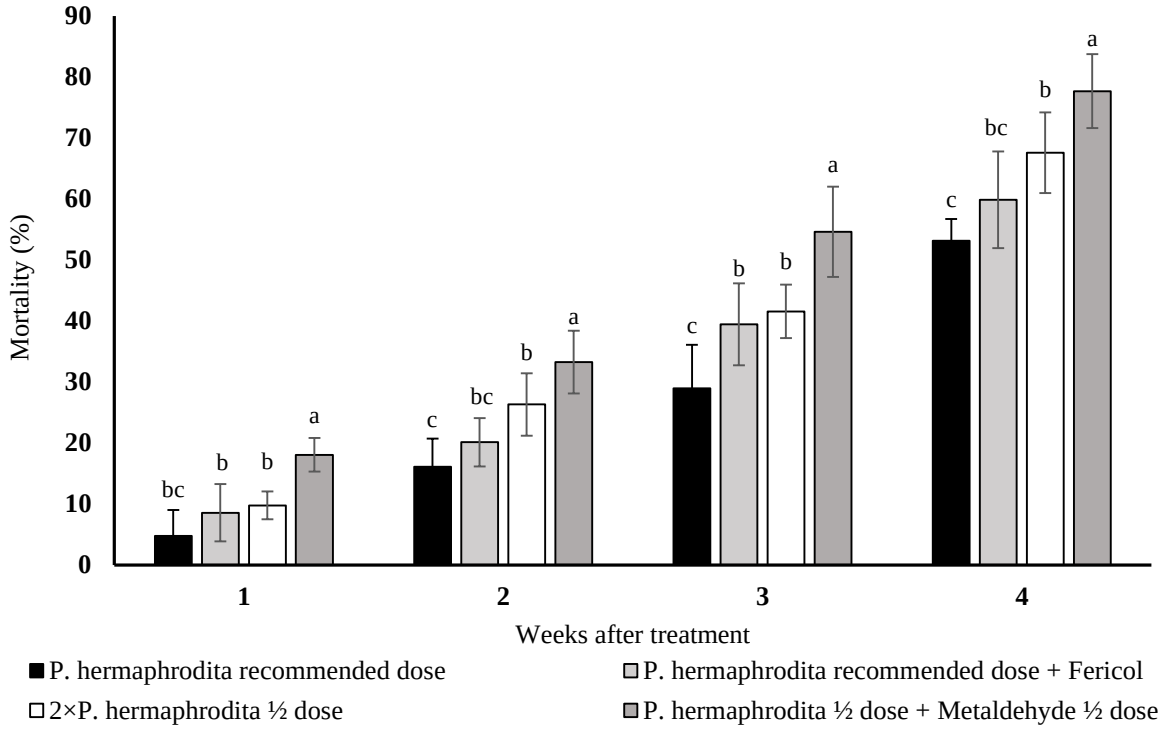
$$\text{درصد تلفات} = \left(1 - \frac{\text{Ta} \times \text{Cb}}{\text{Tb} \times \text{Ca}}\right) \times 100$$

[1]. Ferramol

پس از پایان آزمایش در تیمارهای مختلف، هشت بوته از هر تیمار به صورت تصادفی انتخاب و از ناحیه طوقه بریده و وزن هر یک از آنها اندازه‌گیری شد. داده‌های هواشناسی شامل دما، رطوبت و بارندگی مربوط به نزدیکترین ایستگاه هواشناسی (فومن) به صورت روزانه و برای طول دوره آزمایش دریافت شد. برای بررسی آماری ابتدا توزیع داده‌ها از نظر نرمال بودن با استفاده از نرم‌افزار Minitab بررسی شد و داده‌های درصد از طریق تبدیل به زاویه نرمال شدند. پس از تجزیه واریانس، مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از نرم‌افزار SAS و به روش آزمون توکی در سطح آماری یک درصد انجام گرفت. مقادیر LT_{25} و LT_{50} با استفاده از تجزیه life-test در نرم‌افزار SAS محاسبه شدند. ترسیم نمودارها با نرم‌افزار Ms Excel 2019 انجام گرفت.

نتایج

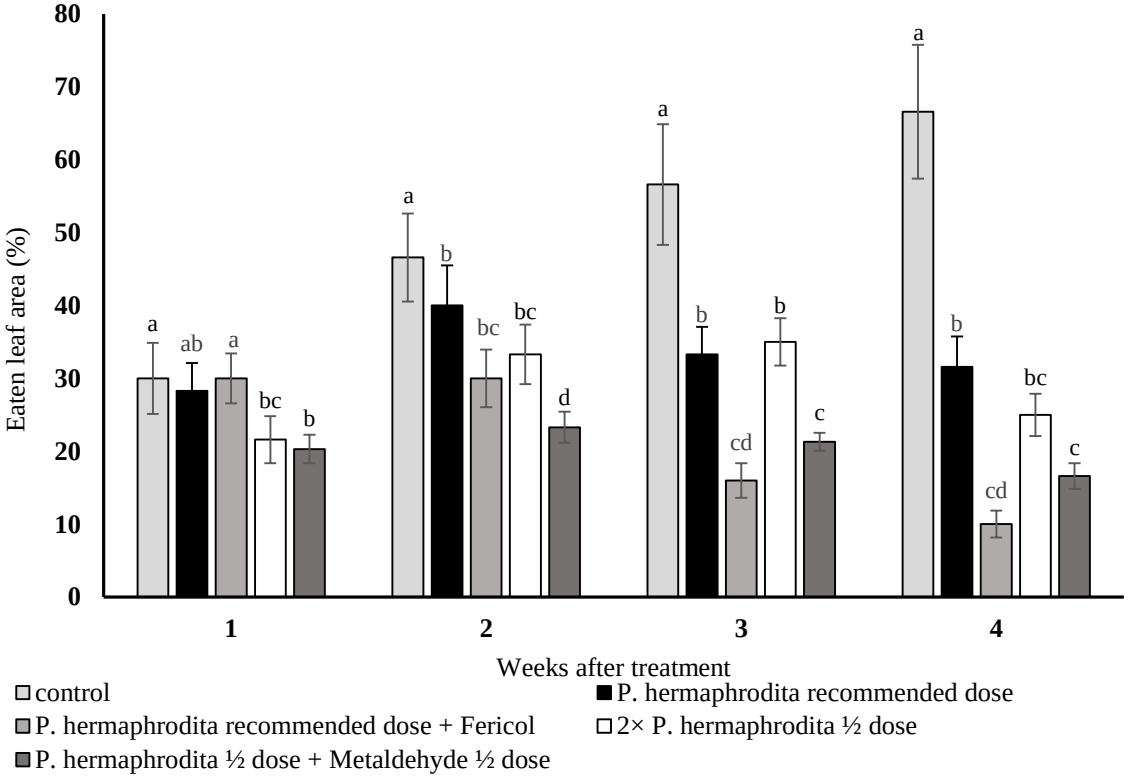
در بررسی اثر تیمارها، پس از هفته چهارم بالاترین میانگین مرگ و میر راب‌ها ۷۷/۶۹ درصد در تیمار نماتد به صورت نیم‌غلظت و متالدهید به صورت نیم‌غلظت دیده شد که تفاوت معنی‌داری ($F_{3,8}$ = ۱۸/۴۲ ؛p < ۰/۰۰۱) با سایر تیمارها داشت (شکل ۱). در سایر هفته‌های بررسی شده نیز این تیمار با سایر تیمارها اختلاف آماری قابل توجهی داشت. پایین‌ترین میانگین مرگ و میر راب‌ها در کل دوره آزمایش به تیمار یک مرتبه غلظت توصیه شده نماتد بود که در پایان زیست‌سنجی ۵۳/۱۴ درصد به دست آمد. در دو تیمار دیگر شامل یک مرتبه غلظت توصیه شده ابتدای آزمایش و استفاده از فریکول یک هفته بعد از آن و دو مرتبه نیم غلظت نماتد در ابتدا و دو هفته بعد از آن تلفات تجمعی راب‌ها به ترتیب ۵۹/۸۹ و ۶۷/۵۸ درصد برآورد شد که کارایی آنها اختلاف آماری قابل توجهی با یکدیگر نداشتند (شکل ۱)



شکل ۱- تلفات تجمعی (تصحیح شده) راب خاکستری *Parmacella ibera* در اثر تیمارهای مختلف بر اساس نماتد *Phasmarhabditis hermaphrodita* تا چهار هفته پس از شروع آزمایش

Figure 1. Aggregated (corrected) mortalities of *Parmacella ibera* encountering different treatments based on *Phasmarhabditis hermaphrodita* within four weeks of experiment start
Similar letters in each week show no statistically significant differences (Tukey HSD, p < 0.01).

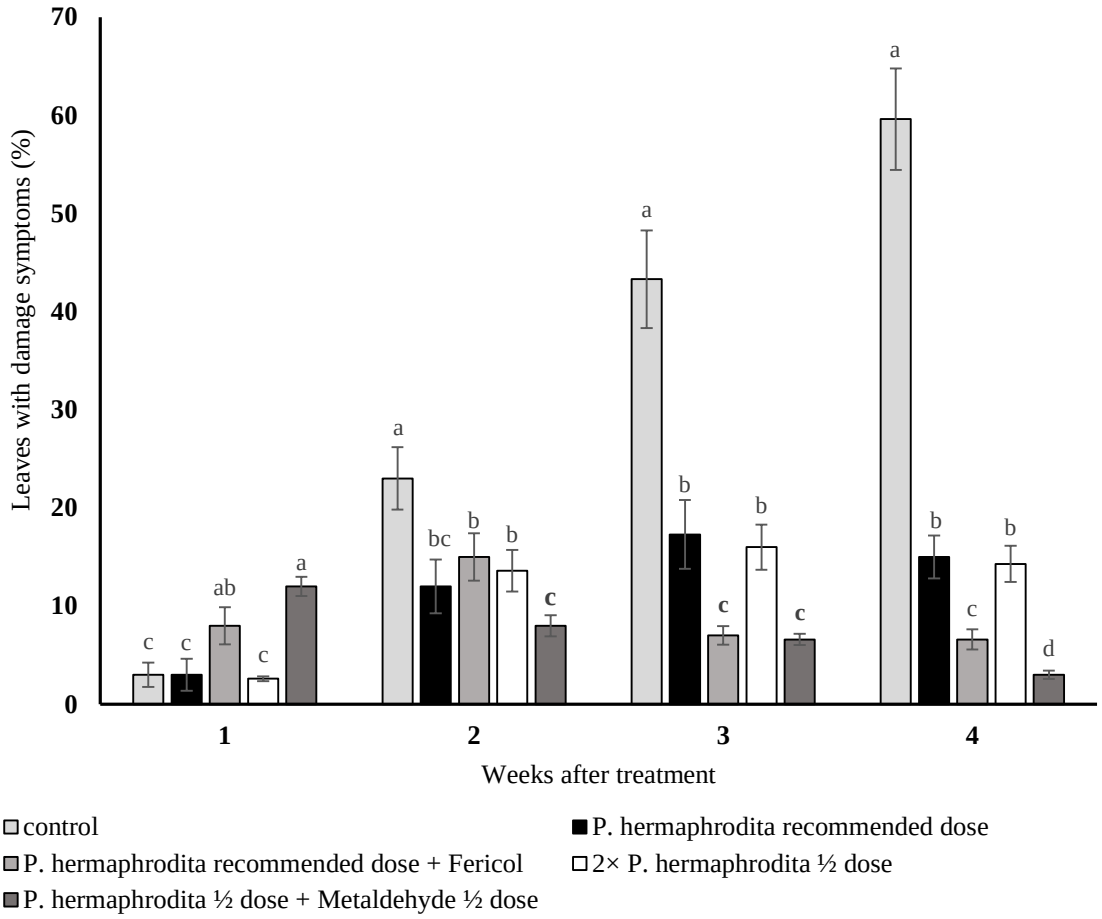
در مورد درصد خوردگی برگ، بر اساس تجزیه آماری همه تیمارها در پایان آزمایش اختلاف معنی‌داری با شاهد داشتند ($F_{۳,۸} = ۳۲/۰۴$ ؛$p < ۰/۰۰۱$). تیمار دو مرتبه نیم‌غلظت توصیه شده نماتد و تیمارهای کاربرد نماتد با فریکول یا متالدهید از نظر آماری اختلافی با یکدیگر نشان ندادند و در این تیمارها به طور میانگین ۱۰ تا ۲۵ درصد خوردگی در برگ‌ها مشاهده شد (شکل ۲). تیمار یک بار استفاده از غلظت توصیه شده نماتد در ابتدای آزمایش، با میانگین ۳۱/۶ درصد خوردگی برگ، با اختلاف معنی‌دار نسبت به شاهد و دو تیمار کاربرد نماتد با فریکول یا متالدهید بدون اختلاف معنی‌دار با تیمار دو مرتبه نیم‌غلظت توصیه شده نماتد گروه‌بندی شد.



شکل ۲- درصد خوردگی سطح برگ کاهو تا چهار هفته پس از کاربرد تیمارهای مختلف بر اساس نماتد *Phasmarhabditis hermaphrodita* علیه راب خاکستری *Parmacella ibera*

Figure 2. Eaten leaf area (%) of lettuce within four weeks after application of different treatments based on *Phasmarhabditis hermaphrodita* against *Parmacella ibera*
Similar letters in each week show no statistically significant differences (Tukey HSD, $p < 0.01$).

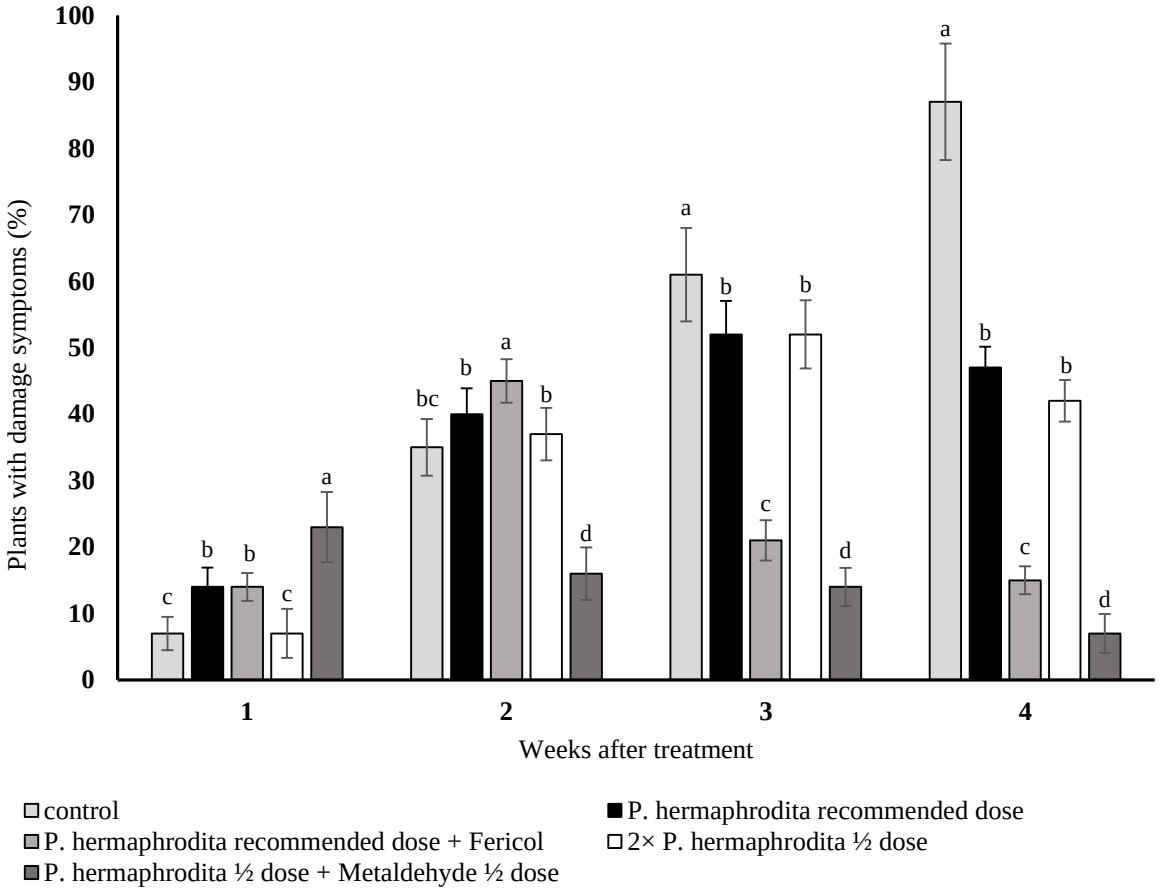
در صفت درصد برگ‌های دارای علایم خوردگی تفاوت آماری معنی‌داری بین شاهد و تیمارهای دیگر مشاهده شد ($F_{۳,۸} = ۲۲/۰۷$ ؛$p < ۰/۰۰۱$). تیمار یک مرتبه نیم‌غلظت نماتد در ابتدای آزمایش و یک مرتبه نیم‌غلظت متالدهید یک هفته بعد از آن بیشترین کارایی را داشت و پس از چهار هفته کمترین خسارت (کمتر از ۵ درصد) در کرت‌های این تیمار مشاهده شد. در تیمار غلظت توصیه شده نماتد و فریکول نیز در مقایسه با تیمارهایی که تنها از نماتد استفاده شده بود، برگ‌ها علایم خوردگی کمتری (میانگین ۶/۶ درصد) داشتند. در تیمارهای یک مرتبه غلظت توصیه شده نماتد ابتدای آزمایش و دو مرتبه نیم غلظت نماتد ابتدای آزمایش و یک هفته بعد از آن، علایم خسارت راب‌ها در حدود ۱۵ درصد برگ‌ها مشاهده شد (شکل ۳).



شکل ۳- درصد برگ‌های دارای علایم خوردگی تا چهار هفته پس از کاربرد تیمارهای مختلف بر اساس نماتد *Phasmarhabditis hermaphrodita* علیه راب خاکستری *Parmacella ibera*

Figure 3. Leaves with damage symptoms (%) within four weeks after application of different treatments based on *Phasmarhabditis hermaphrodita* against *Parmacella ibera*
Similar letters in each week show no statistically significant differences (Tukey HSD, $p < 0.01$).

در ارتباط با بررسی صفت درصد بوته‌های دارای برگ‌های خسارت دیده، تیمار شاهد بیشترین بوته‌های واجد برگ‌های خسارت دیده را داشت ($F_{3,8}$ = ۱۶/۵۴؛ p < ۰/۰۰۱) و ۸۷ درصد بوته‌های شاهد در پایان آزمایش علایمی از خسارت راب خاکستری را نشان دادند (شکل ۴). تیمارهایی که تنها از نماتد در آنها استفاده شد، درصد بوته‌های آلوده کاهش معنی‌داری (حدود ۴۵ درصد) نسبت به شاهد داشتند. تیمارهای یک مرتبه غلظت توصیه‌شده نماتد ابتدای آزمایش و استفاده از فریکول یک هفته بعد از آن و یک مرتبه نیم‌غلظت نماتد ابتدای فصل و یک مرتبه نیم‌غلظت متالدهید یک هفته بعد از آن به ترتیب با میانگین ۱۵و ۷ درصد بوته‌های خسارت دیده شرایط بهتری داشتند و کمترین درصد بوته‌های خسارت دیده در تیمار نماتد + متالدهید دیده شد (شکل ۴).



شکل ۴- درصد بوته‌های دارای علایم خوردگی تا چهار هفته پس از کاربرد تیمارهای مختلف بر اساس نماتد *Phasmarhabditis hermaphrodita* علیه راب خاکستری *Parmacella ibera*

Figure 4. Plants with damage symptoms (%) within four weeks after application of different treatments based on *Phasmarhabditis hermaphrodita* and chemicals against *Parmacella ibera* Similar letters in each week show no statistically significant differences (Tukey HSD, $p < 0.01$).

با استفاده از نتایج تلفات در واحد زمان، مقادیر زمانی لازم برای تلفات ۲۵٪ و ۵۰٪ راب خاکستری در اثر تیمارهای مختلف آزمایش محاسبه شد (جدول ۱). بر این اساس کمترین زمان مورد نیاز برای از بین رفتن ۲۵٪ راب‌ها مقدار ۱۳/۰۲ روز بعد از شروع آزمایش متعلق به تیمار استفاده از یک مرتبه نیم‌غلظت نماتد در ابتدای آزمایش و یک مرتبه نیم‌غلظت متالدهید یک هفته بعد از آن بود. در این تیمار مقدار LT_{50} کمتر از سایر تیمارها (۲۰/۶۵ روز) بود، هر چند با توجه به هم‌پوشانی حدود اطمینان تیمارها اختلاف معنی-داری با تیمارهای دیگر نداشت (جدول ۱).

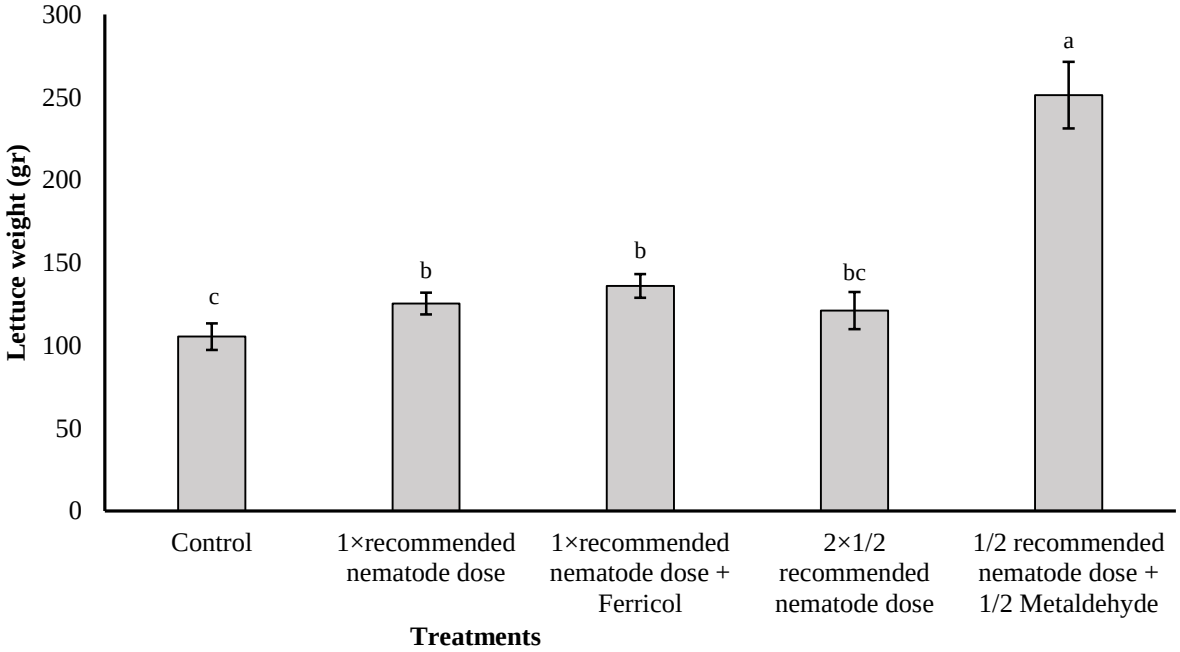
پس از پایان بررسی‌های میدانی برای تلفات راب *P. ibera*، متوسط وزن هر یک از بوته‌های کاهو در هریک از تیمارها به دست آمد (شکل ۵). نتایج نشان داد که بیشترین وزن بوته متعلق به بوته‌های موجود در تکرارهای تیمار استفاده از نیم غلظت نماتد و نیم غلظت متالدهید بوده است (۰/۰۰۲ > p؛ $F_{۳،۸}$ = ۱۴/۳۸). سایر تیمارها اختلاف آماری معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. همچنین، تیمار دو بار استفاده از نیم‌غلظت نماتد اختلاف معنی‌داری با شاهد نیز نداشت (شکل ۵).

جدول ۱ – مقادیر زمانی لازم برای تلفات ۲۵ درصد (LT_{25}) و ۵۰ درصد (LT_{50}) راب خاکستری *Parmacella ibera* در اثر تیمارهای مختلف بر اساس نماتد *Phasmarhabditis hermaphrodita*

Table 1. Time values need for mortality of 25 and 50 percent (LT_{25} and LT_{50}) of *Parmacella ibera* encountering different treatments based on *Phasmarhabditis hermaphrodita*

Treatments	LT_{25} (days) (confidence intervals)	LT_{50} (days) (confidence intervals)	Slope±SE	P-value
1×*P. hermaphrodita* recommended dose	15.18 (13.21-16.79)	22.65 (21.08-24.57)	0.090±0.010	0.0001
P. hermaphrodita recommended dose + Fericol	15.47 (13.14-17.33)	24.43 (22.36-27.08)	0.075±0.009	0.0001
2×*P. hermaphrodita* ½ dose	17.04 (15.37-18.46)	23.58 (22.12-25.34)	0.103±0.011	0.0001
P. hermaphrodita ½ dose +Metaldehyde ½ dose	13.02 (10.82-14.74)	20.65 (19.12-22.45)	0.088±0.009	0.0001

Non-overlapping confidence intervals among treatments shows statistically significant difference.



شکل ۵- وزن یک بوته کاهو چهار هفته پس از کاربرد تیمارهای مختلف بر اساس نماتد *Phasmarhabditis hermaphrodita* علیه راب خاکستری *Parmacella ibera*

Figure 5. Lettuce weight four weeks after application of different treatments based on *Phasmarhabditis hermaphrodita* against *Parmacella ibera*
Similar letters among the treatments indicate no statistically significant differences (Tukey HSD, $p < 0.01$).

بحث

مهم‌ترین شاخص‌هایی که در ارتباط با نتیجه تحقیق حاضر مورد بررسی قرار گرفته و در شکل ۱ و ۲ نمایش داده شده است، میزان تلفات راب‌ها و درصد خوردگی برگ بوده است. در این شاخص‌ها، در تیمار استفاده از نصف غلظت نماتد در ابتدای فصل و استفاده از نصف غلظت متالدهید یک هفته بعد از آن بالاترین تاثیر دیده شد.

مستعد بودن ۱۹ گونه راب و ۱۸ گونه حلزون با در معرض قرار گرفتن نماتد *P. hermaphrodita* در شرایط آزمایشگاهی بررسی شده است. تعداد ۱۲ گونه راب و ۸ گونه از حلزون‌ها به‌وسیله این نماتد کشته شدند، اما جواب این سوال

که چرا برخی از گونه‌ها حتی با غلظت‌های بالا نماتد هم مقاوم هستند، هنوز نامشخص است؛ اگرچه بررسی‌های اخیر نشان داده‌اند که تفاوت بین مستعد بودن راب‌ها و حلزون‌ها برای آلودگی با نماتد تا حدودی به وجود و ساختار پوسته حلزون مرتبط است (Rae, 2017).

راب‌ها از حضور در مناطقی که نماتد وجود دارد اجتناب می‌کنند (Wilson *et al*., 1999; Wynne *et al*., 2016)؛ اگرچه بررسی‌های اخیر نشان داده‌اند که راب‌هایی که به نماتد آلوده می‌شوند، بیشتر به مناطق حضور آنها جذب می‌شوند و آلودگی بیشتری می‌یابند؛ در این صورت، نماتدها با سرعت بیشتری در میزبان تکثیر یافته و سریع‌تر آن را از بین می‌برند (Morris *et al*., 2018). در اروپا نماتد انگل *P. hermaphrodita* می‌تواند چندین گونه از راب‌ها و حلزون‌ها را آلوده کند و در کنترل راب خاکستری نیز موثر است (Wilson *et al*., 1993).

بر اساس نتایج تحقیق حاضر، تیمار کاربرد دو مرتبه نیم غلظت نماتد در ابتدا و یک هفته پس از آن تاثیر کمتری در کنترل راب در مقایسه با کاربرد نماتد همراه با متالدهید یا فریکول داشته است. با این حال، آزمایش‌های متعدد نشان داده است که تکرار کاربرد غلظت پائین این نماتد، کاهش قابل توجهی در خسارت راب به‌وجود آورده که حتی مشابه متالدهید است (Grewal *et al*., 2001; Ester *et al*., 2003; Rae *et al*., 2009). هر چند چندین بار استفاده از نماتد در کنترل راب روشی مناسب و سازگار با محیط زیست به نظر می‌رسد، با این حال قیمت بالای استفاده از آن موجب عدم استقبال از این روش نیز خواهد بود.

در بررسی‌های انجام شده به وسیله پژوهشگران مختلف، روش‌ها و غلظت‌های مختلف کاربرد نماتدها در میزان کنترل گونه‌های مختلف و کاهش هزینه‌های کنترل راب‌ها استفاده شده است. این پژوهش‌ها در آزمایشگاه و مزارع کوچک برای بررسی امکان کاربرد این نماتد در ترکیب با سایر عوامل برای کاهش غلظت مورد نیاز انجام شده است (Ester *et al*., 2003; Rae *et al*., 2009). در تحقیق حاضر، تعیین غلظت مناسب نماتد صورت نگرفته است. با این حال ترکیب نماتد با سایر عوامل یا کاهش مقادیر مصرف آن انجام گرفته است، تا ضمن تضمین کنترل مناسب راب خاکستری و تولید محصول سالم‌تر، هزینه‌های عملیات کنترل کاهش یافته و بیشتر مورد اقبال و استفاده کشاورزان قرار گیرد.

در بریتانیا، تولیدکنندگان تجاری محصولات کشاورزی برای کاهش خسارت راب در تولید کاهو، کلم بروکلی، کلم و کرفس به طور معمول از این نماتد استفاده می‌کنند (Wilson *et al*., 1994; Ester *et al*., 2003). آزمایش اولیه کاربرد این نماتد در سوئیس برای حفاظت از کاهوهای کاشته شده در فضای باز در غلظت ۱۰۰ عدد در متر مربع به طور قابل ملاحظه‌ای در کاهش خسارت راب موفقیت آمیز بود (Speiser and Andermatt, 1996).

در آزمایشی که به منظور بررسی توانایی این نماتد در کاهش خسارت راب روی نوعی کاهو انجام شده است، مشخص شد که کاربرد مستمر نماتد در غلظت‌های پایین نسبت به کاربرد استاندارد یک‌بار نماتد اثر بهتری داشت (Ester and Wilson, 2005). با توجه به بررسی‌های صورت گرفته در این تحقیق، کاربرد دو مرتبه نیم‌غلظت این نماتد با فاصله دو هفته‌ای نسبت به یک‌بار استفاده از نماتد به میزان توصیه شده تاثیر آماری متفاوتی را نشان نداد.

در یک مطالعه، را و همکاران (Rae *et al*., 2009) دریافتند که در سبزیکاری‌ها، فسفات آهن و متالدهید حفاظت مناسبی علیه راب *Arion ater* L. و *Deroceras reticulatum* Müller روی محصول کاهو ایجاد کردند و اثرشان مشابه هم بود. فسفات آهن در حفاظت از محصول کاهو، چغندر قند، کلزا و برخی گیاهان زینتی علیه *D. reticulatum*، *A. lusitanicus* Mabille، *A. ater* و *A. hortensis* Férussac موثر بود (Iglesias and Speiser 2001; Speiser *et al*., 2002; Rae *et al*., 2006). باید به خاطر داشت که فسفات آهن نسبت به نرم‌تن‌کش‌هایی مانند متیوکارب و متالدهید که اثرات سویی روی جانوران غیرهدف دارند، تقدم دارد. فسفات آهن به طور گسترده در غذاهای انسانی و به عنوان ترکیباتی در کودهای مصنوعی به کار می‌رود، در نتیجه، در محیط زیست مشکلی ایجاد نمی‌کند و می‌تواند برای کشت‌های ارگانیک استفاده شود (Speiser *et al*., 2002). نتایج این تحقیق حاکی از آن است که تیمار

تلفیقی نماتد و متالدهید کارآیی بهتری نسبت به تیمار تلفیقی نماتد و فسفات آهن دارد.

برخی از پژوهشگران گزارش کرده‌اند که نماتد *P. hermaphrodita* سبب کاهش خسارت به گیاه توسط راب‌ها بدون داشتن اثر قابل توجه در تعداد آنها می‌شود. نماتد به کار رفته به صورت اسپری و با غلظت ۱۰۰ عدد در متر مربع، کاهش قابل توجهی در خسارت به کلم چینی که توسط راب *D. reticulatum* ایجاد می‌شود، ندارد (Rae *et al.*, 2009).

مطالعه تاثیر نرم‌تن‌کش‌ها شامل فسفات آهن در مقایسه با متالدهید و متیوکارب نشان داده که این مواد به دلیل کاهش تغذیه، روی راب‌ها اثرات کشندگی داشته و به تبع آن خسارت به گیاه کاهش می‌یابد. شروع مرگ و میر راب‌ها پنج روز بعد از کاربرد و بالاترین نرخ مرگ و میر، هفت روز پس از کاربرد مواد به‌دست آمد (Kozlowski *et al.*, 2014). در بررسی انجام شده در این تحقیق، در تیمار کاربرد یک مرتبه غلظت توصیه شده نماتد و استفاده از فریکول یک هفته بعد از آن، همانند بررسی انجام شده توسط کوزلوسکی و همکاران (Kozlowski *et al.*, 2014)، اولین مرگ و میر راب‌ها تا هفت روز بعد از کاربرد فسفات آهن دیده شده و بالاترین نرخ مرگ و میر نیز در اوایل هفته دوم به ثبت رسیده است.

در بررسی اثر کارآیی فسفات آهن، متالدهید و کاربارایل در کنترل راب (.*Deroceras agreste* (L که در مزارع کاهو در استان‌های مازندران و تهران انجام شد، تاثیر فسفات آهن با نام تجاری فریکول در مقایسه با سموم اشاره شده در کنترل راب در سال ۱۳۸۷ بررسی شد. نتایج نشان داد که فسفات آهن دارای بیشترین عملکرد (۷۱/۲۶ درصد) بوده و همانند متالدهید (۷۰/۴۲ درصد) در سطح بالایی راب را کنترل کرده است (Ahmadi, 2009).

کارآیی برخی ترکیبات شیمیایی و طبیعی (کود سولفات مس، متالدهید، فریکول، کوپرکس و خاک اره) در کنترل حلزون سفید (*Helicella candaharica* Pfeiffer) روی محصول کاهو و گوجه فرنگی در مازندران مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آزمایش در یک دوره ۲۱ روزه نشان داد که فریکول در هر دو محصول کاهو و گوجه فرنگی به ترتیب به میزان ۷۸/۳ درصد و ۸۰/۲ درصد کارآیی بهتری داشته است. تیمارهای کوپرکس و متالدهید به‌ترتیب بعد از فریکول قرار داشتند و در نهایت، خاک اره و سولفات مس به فاصله ناچیزی از یکدیگر در پایین‌ترین میزان درصد کارایی قرار داشتند. به نظر می‌رسد فسفات آهن با فرمولاسیون تجاری فریکول قادر به رقابت با متالدهید برای کنترل حلزون سفید باشد (Alishah *et al.*, 2020).

بررسی اثر چهار گونه از نماتدهای خانواده Rhabditidae (*Steinernema feltiae* Filipjev، *S. carpocapsae* Weiser، *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar و *P. hermaphrodita*) و مقایسه با استفاده از متالدهید در کنترل راب خاکستری در شرایط آزمایشگاهی توسط سعیدی زاده و نیاستی (Saeedizadeh and Niasti, 2017) انجام شده است. نتایج نشان داد که میانگین مرگ و میر آفت توسط نماتدهای *H. bacteriophora*، *S. feltiae*، *S. carpocapsae* و *P. hermaphrodita* و تیمار شیمیایی به ترتیب ۲۲/۵۸، ۳۹/۲۰، ۴۶/۷۹، ۵۹/۲۰ و ۶۴/۷۹ درصد بود که با افزایش سطح جمعیت نماتد و نیز افزایش غلظت ترکیب شیمیایی و همراه با افزایش مدت زمان در معرض بودن، میزان درصد مرگ و میر آفت افزایش یافت.

به طور کلی، با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان نتیجه‌گیری کرد که کاربرد نماتد به صورت تیمار یک مرتبه نصف غلظت توصیه شده ابتدای فصل همراه یا کاربرد متالدهید با فاصله یک هفته‌ای موجب کنترل بهتر راب خاکستری (*P. ibera*) می‌شود. این روش از لحاظ اقتصادی نیز به خاطر استفاده از نصف غلظت توصیه شده نماتد *P. hermaphrodita* روش قابل قبولی به وسیله کشاورزان است. هم‌چنین، به دلیل استفاده از نصف غلظت توصیه شده از سم شیمیایی متالدهید، روشی به نسبت سازگار با محیط زیست محسوب می‌شود و می‌توان آن را برای استفاده عملی در شرایط مزرعه توصیه کرد. آزمایش‌های بیشتر برای تعیین بهترین ترکیب غلظت‌های نماتد و متالدهید و افزایش کارایی سایر تیمارها با تغییر نسبت ترکیب آنها مفید خواهد بود.

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)

Alishah, H., Mohammadi Sharif, M. and Hadizadeh, A. 2020. Field efficacy of some chemical and natural compounds for control of the snail *Helicella candaharica*. **Plant Pest Research** 10(1): 31-40. (In Farsi)

Bailey, S. E. R., Cairns, A., Latham, R., Abdel Kasi, M. and Manning, P. 2003. Onset of immobilization on the slug *Deroceras reticulatum* Müller parasitized by the nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita* Schneider. In: Slugs and snails: agricultural, veterinary and environmental perspectives. British Crop Protection Council (BCPC) Symposium Proceedings. Canterbury, UK. pp. 215-220.

Ester, A., Rozen, K. and Molendijk, L. P. G. 2003. Field experiments using the rhabditid nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita* or salt as control measures against slugs in green asparagus. **Crop Protection** 22: 689–695.

Ester, A. and Wilson, M. J. 2005. Application of slug parasitic nematodes. In Grewal, R. U. Henderson, I. F. Triebskorn, R. (Eds.). Nematodes as Biocontrol Agents. CABI Publishing. Wallingford, USA. pp. 421-429.

Fletcher, M. R., Hunter, K. and Barnet, E. A. 1999. Pesticide poisoning of animals. Ministry of Agriculture Fishing and Food (MAFF) Publications, London, UK. pp.64.

Godan, D. 1979. Schadschnecken und ihre Bekämpfung. Ulmer, Stuttgart, Germany. pp. 467.

Grewal, P. S., Grewal, S. K., Taylor, R. A. J. and Hammond, R. B. 2001. Application of molluscicidal nematodes to slug shelter. A novel approach to economic biological control of slugs. **Biological Control** 22: 72–80.

Glen, D. M., Wilson, M. J., Brain, P. and Stroud, G. 2000. Feeding activity and survival of slugs, *Deroceras reticulatum* exposed to the rhabditid nematode, *Phasmarhabditis hermaphrodita*: a model dose response. **Biological Control** 17: 73–81.

Glen, D. M., Wilson, M. J., Hughes, L., Cargeeg, P. and Hajjar, A. 1996. Exploring and exploiting the potential of the rhabditid nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita* as a biocontrol agent for slugs. In Henderson, I. F. (Eds.). Slugs and Snails: Agricultural, Veterinary and Environmental Perspectives, British Crop Protection Council. BCPC Symposium Proceedings No. 66. Farnham, UK, pp. 271–280.

Henderson, C. F. and Tilton, E. W. 1955. Tests with acaricides against the brow wheat mite, **Journal of Economic Entomology** 48: 157-161.

Henderson, I. F., Triebskorn, R. 2002. Chemical control of terrestrial gastropods. In Barker, G. M. (Eds.). Molluscs as Crop Pests. CABI Publishing, Wallingford, Oxon OX 10 8DE, UK, pp. 1-31.

Iglesias, J. and Speiser, B. 2001. Consumption rate and susceptibility to parasitic nematodes and chemical molluscicides of the pest slugs *Arion hortensis* and *A. distinctus*. **Journal of Pest Science** 74: 159–166.

Iglesias, J., Castillejo, J. and Castro, R. 2001. Field test using the nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita* for biocontrol of slugs in Spain. **Biocontrol Science and Technology** 11: 93-98.

Morris, A., Green, M., Martin, H., Crossland, K., Swaney, W. T., Williamson, S. M. and Rae, R. 2018. A nematode that can manipulate the behavior of slugs. **Behavioral Processes** 151: 73-80.

Nielsen, G. R. 1997. Slugs and Snails. University of Vermont Extension, bulletin EL-April 8, 1997. from http://ctr.uvm.edu/ctr/el/el14.html.

Pechova, H. and Foltan, P. 2008. The parasitic nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita* defends its slug host from being predated or scavenged by manipulating host spatial behavior. **Behavioral Processes** 78: 416-420.

Port, G. and Ester, A. 2002. Gastropods as Pests in Vegetable and Ornamental Crops in Western Europe. In: Barker, G. M. (Eds.). Molluscs as Crop Pests. CABI Publishing, Wallingford, Oxon OX 10 8DE, UK: 337-351.

Port, C. M. and Port, G. R. 1986. The biology and behavior of slugs in relation to crop damage and control. **Agricultural Zoology Reviews** 1: 255-299.

Purves, G. and Bannon, J. W. 1992. Non-target effects of repeated methiocarb slug pellet application on carabid beetle (Coleoptera, Carabidae) activity in winter-sown cereals. **Annuals of Applied Biology** 121: 215–223.

Rae, R. 2017. *Phasmarhabditis hermaphrodita* a new model to study the genetic evolution of parasitism. **Nematology** 19: 375-387.

Rae, R. G., Robertson, J. F. and Wilson, M. J. 2006. The chemotactic response of *Phasmarhabditis hermaphrodita* (Nematoda: Rhabditidae) to cues of *Deroceras reticulatum* (Mollusca: Gastropoda). **Nematology** 8: 197–200.

Rae R. G., Robertson J. F. and Wilson M. J. 2009. Optimization of biological (*Phasmarhabditis hermaphrodita*) and chemical (iron phosphate and metaldehyde) slug control. **Crop Protection** 28: 765–773.

Rae, R. G., Verdun, C., Grewal, P. S., Robertson, J. F. and Wilson, M. J. 2007. Biological control of terrestrial molluscs using *Phasmarhabditis hermaphrodita* progress and prospects. **Pest Management Science** 63: 1153-1164.

Saeedizadeh, A. and Niasti, F. 2017. The effect of rhabditid nematodes on grey slug, *Parmacella ibera* Eichwald in laboratory condition. International Conference on Green Supply Chain. 4 May. Lahijan, Iran. Pp. 1-7. (in Farsi)

South, A. 1992. Terrestrial Slugs. Biology, Ecology, Control. Chapman & Hall, London, UK, pp. 428.

Speiser, B. and Andermatt, M. 1996. Field trials with *Phasmarhabditis hermaphrodita* in Switzerland. In Henderson, I. F. (Eds.). Slug & Snail Pests in Agriculture. British Crop Protection Council, Farnham, UK. pp. 419–424.

Speiser B. and Kistler, C. 2002. Field test with a molluscicide containing iron phosphate. **Crop Protection** 21(5): 389–394.

Tan, L. and Grewal, P. S. 2001. Infection behaviour of the rhabditid nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita* to the grey garden slug *Deroceras reticulatum*. **Journal of Parasitology** 87: 1349–1354.

Wilson, M. J., George, S. K., Glen, D. M., Pearce, J. D. and Rodgers, P. B. 1993. Biological control of slugs and snail pests with a novel parasitic nematode. Third International Conference on Pests in Agriculture Proceedings, Association Nationale de Protection des Plantes (ANPP) Paris. pp. 425–432.

Wilson, M. J., Glen, D. M., George, S. K., Pearce, J. D. and Wiltshire, C. W. 1994. Biological control of slugs in winter wheat using the rhabditid nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita*. **Annuals of Applied Biology** 125:377–390.

Wilson, M. J., Hughes, L. A., Jefferies, D. and Glen, D. 1999. Slugs *Deroceras reticulatum* and *Arion ater* avoid soil treated with the rhabditid nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita*. **Biological Control** 16: 170-176.

Wilson, M. J., Major, B., Hughes, L. A. and Glen, D. M. 2000. Integrating biological and chemical control of slugs. Proceedings Brighton Crop Protection Conference - Pests and Diseases. pp. 1007-1012.

Wynne, R., Morris, A. and Rae, R. 2016. Behavioral avoidance by slugs and snails of the parasitic nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita*. **Biocontrol Science and Technology** 16: 1129-1138.

Yakhchali, M., Gorgani-Firuzjaei, T. and Baghri, K. 2013. Radular teeth morphology in *Limax (Caspilimax) keyserlingi* (Martens, 1880) and *Parmacella ibera* (Eichwald, 1841) from Northern Iran. **Iranian Journal of Parasitology** 8: 256-263.

Plant Pest Research
2021- 11 (1): 57-69

Research paper

Integrated management of grey slug *Parmacella ibera* by *Phasmarhabditis hermaphrodita*, Metaldehyde and Fericol in Someh Sara, Guilan Province

M. H. Akbari Asl* and S. A. Safavi
Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

(Received: February 25, 2021- Accepted: May 22, 2021)

Abstract

Biological pesticides have advantages to chemicals that safety to non-target organisms is of the most important ones. Slugs are parasitized or preyed by several organisms such as nematodes. In this research, integrated management of grey slug *Parmacella ibera* was assessed by *Phasmarhabditis hermaphrodita*, Metaldehyde and Fericol in field conditions in Someh Sara, Guilan Province. The treatments included: untreated, *P. hermaphrodita* recommended dose, *P. hermaphrodita* recommended dose + Fericol, *P. hermaphrodita* ½ dose and *P. hermaphrodita* ½ dose +Metaldehyde ½ dose on *P. ibera* assessed based on the percent of dead slugs, mean percent of damaged leaves, the number of leaves with damage symptoms and the number of plants with damage symptoms. Results showed the highest percent of dead slugs in *P. hermaphrodita* ½ dose +Metaldehyde ½ dose. Mean percent of damaged leaves was not significantly different among *P. hermaphrodita* treatments along with Fericol and metaldehyde. Results indicated that *P. hermaphrodita* ½ dose + Metaldehyde ½ dose treatment had considerable effect in all parameters on pest control besides a decrease in the damage.

Key words: Nematode, Slug, Pesticide, Metaldehyde, Fericol

* Corresponding author: ipm_gharb90@yahoo.com