تحقیقات آفات گیاهی
۳۹-۲۹ :(۳) ۹- ۱۳۹۸

تأثیر عصاره‌های گیاهی گلدر (*Rydingia persica*) و مورد (*Myrtus communis*) علیه *Bemisia tabaci* در شرایط آزمایشگاهی

محمود عالیچی*، سامان روستا، فائزه باقری و کامبیز مینایی
بخش گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۵/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۸/۱)

چکیده

استفاده از عصاره‌های گیاهی به عنوان ترکیباتی طبیعی علیه حشرات آفت یکی از روش‌های موثر در کاهش مصرف آفت‌کش‌های شیمیایی در آینده محسوب خواهند شد. در بررسی حاضر، تأثیر عصاره دو گیاه گلدر و مورد و نیز اثر متقابل عصاره‌ها در غلظت‌های به‌دست آمده روی آفت مهم سفیدبالک *Bemisia tabaci* در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. عصاره‌ی گیاه گلدر در شش سطح صفر، ۲۰، ۲/۵، ۳/۱، ۳/۹ و ۵ گرم در لیتر و عصاره‌ی گیاه مورد در شش سطح صفر، ۱/۴، ۱/۸، ۲/۳، ۳ و ۴ گرم در لیتر بررسی شدند. آزمایش‌ها در شرایط دمایی ۳ ± ۲۷ درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی ۶ ±۵۰ درصد و دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انجام شدند. مقدار غلظت کشنده پنجاه درصد (LC_{50}) برای عصاره‌های مورد و گلدر به‌ترتیب ۲/۵۶و ۳/۳۹ گرم در لیتر تخمین زده شد که به صورت معنی‌دار در سطح احتمال ۹۵ درصد با یکدیگر متفاوت بودند. همچنین با افزایش غلظت عصاره‌ی گلدر و مورد به‌ترتیب تا مقادیر ۵ گرم در لیتر و ۴ گرم در لیتر ، درصد تلفات نیز افزایش یافت. بیشترین درصد تلفات سفیدبالک *B. tabaci* تحت تیمار عصاره گلدر و مورد به ترتیب ۷۹/۸ و ۸۱ درصد مشاهده شد. نتایج بررسی تأثیر متقابل کشندگی عصاره‌های گلدر و مورد روی سفیدبالک *B. tabaci* نشان داد که بیشترین درصد تلفات در سطح ۵ گرم در لیتر از گیاه گلدر و ۲/۳ ، ۳ و ۴ گرم در لیتر از گیاه مورد برآورد شد و میزان تلفات آفت در حالت کاربرد هم‌زمان به‌ترتیب ۹۵، ۹۶/۳ و ۹۷/۳ درصد برای سه سطح فوق به‌دست آمد.

واژه‌های کلیدی: تأثیر متقابل، غلظت کشنده ۵۰ درصد، عصاره متانولی، غلظت – پاسخ

نویسنده مسئول: aalichi@shirazu.ac.ir

مقدمه

سفیدبالک پنبه، *Bemisia tabaci* (Gennadius)، یکی از آفات مهم کشاورزی با بیش از ۹۰۰ میزبان شامل گیاه گوجه‌فرنگی است. این حشره به‌صورت مستقیم در نتیجه‌ی تغذیه از شیره‌ی گیاهی و یا به‌طور غیرمستقیم با انتقال ویروس یا ترشح عسلک به گیاه خسارت می‌زند (Glick *et al*., 2009). یکی از راه‌های متداول مدیریت سفیدبالک پنبه استفاده از آفت‌کش‌های شیمیایی است. گسترش مقاومت به حشره‌کش‌های شیمیایی و نگرانی‌ها درباره‌ی تأثیر این مواد بر محیط زیست و سلامت انسان، از دلایل اصلی برای توسعه‌ی سایر روش‌های کنترل آفات به شمار می‌رود (Polston *et al*., 2001).

گیاهان از حدود ۴۰۰ میلیون سال پیش تاکنون در حال تکامل روش‌هایی برای حفظ خود در برابر آفات هستند؛ به طوری که برخی گیاهان در مسیر تکامل به یک سیستم دفاعی کارا در برابر حشرات مجهز شده‌اند (Godfrey, 1994) و این موضوع باعث شده تا آنها به یکی از منابع مهم برای تولید آفت‌کش‌های جدید تبدیل شوند. مواد تولیدشده به‌وسیله‌ی گیاهان که به‌عنوان ترکیب‌های سمی، دورکننده و یا بازدارنده‌ی تغذیه و تخم‌ریزی عمل می‌کنند، در کنار حشره‌کش‌هایی با نحوه تأثیر متفاوت و جدید که در عین کم‌خطر یا بی‌خطر بودن برای انسان و محیط زیست مشکل مقاومت به ترکیبات قبلی را نیز برطرف می‌کنند، از جمله گزینه‌های مورد بررسی برای جایگزین شدن با ترکیب‌های رایج حشره‌کش هستند (Pavela, 2008; Czaja *et al*., 2014; Nasr *et al*., 2017; Arshad *et al*., 2019). استفاده از ترکیب‌های گیاهی به عنوان حشره‌کش با استفاده از دو ترکیب روتنون و نیکوتین از سال ۱۸۵۰ میلادی آغاز شده است و تاکنون پژوهش‌های بسیاری در این زمینه انجام شده است (Chaubey, 2007). این ترکیبات سمیت کمی برای انسان و جانوران خونگرم دارند (Isman, 2006). در سال‌های اخیر استفاده از عصاره‌های گیاهی به‌عنوان جایگزینی برای حشره‌کش‌های سنتزی مورد توجه قرار گرفته است (Sarailoo, 2012). در عصاره گیاهانی که برای حشرات سمی هستند، موادی با عنوان متابولیت‌های ثانویه وجود دارد که این مواد شامل ترپنوییدها، استروییدها، تانن‌ها، فلاونوییدها، کینون‌ها، ساپونین‌ها و آلکالوییدها می‌باشند (Hajhashemi *et al*., 2010; Sengupta, 2012).

گیاه گلدر با نام علمی *Rydingia persica* (Burm) از تیره‌ی نعناع (Lamiaceae) در جنوب و جنوب شرقی ایران در استان‌های فارس، کرمان و سیستان و بلوچستان می‌روید (Koohestani *et al*., 2012). گیاه گلدر در طب سنتی و درمان دیابت کاربرد داشته (Yadegarinia *et al*., 2006; Sadeghi, 2014) و در مواردی نیز خاصیت دورکنندگی و کشندگی این گیاه در برابر حشرات به‌صورت موفقیت‌آمیزی بررسی شده است (Ateyyat *et al*., 2009). متابولیت‌های ثانویه عصاره‌ی متانولی گیاه گلدر شامل فلاونوییدها، استروییدها، تانن‌ها و تری‌ترپنوییدها[1] است (Hajhashemi *et al*., 2012). تجزیه و تحلیل شیمیایی عصاره‌ی گلدر توسط صادقی و همکاران نشان دادند که بتاکاریوفیلن[2]، بتاسینسال[3] و کاریوفیلن‌اکسید[4] اجزای اصلی تشکیل‌دهنده‌ی این عصاره هستند (Sadeghi, 2014). ترکیب‌هایی مانند تانن با ایجاد اثر منفی در جذب ترکیبات مغذی مثل پروتیین و اکسایش در لوله گوارش حشرات، باعث مرگ آنها می‌شوند. برخی ترپنوییدها مانند تری‌ترپنوییدها حاوی ملکول‌هایی هستند که به عنوان ضد هورمون استروییدی در جایگزینی روی گیرنده‌های اکدیستروییدی عمل می‌کنند و سبب تأخیر یا ممانعت از پوست‌اندازی می‌شوند (Hoffmann *et al*., 1998).

گیاه مورد با نام علمی *Myrtus communis* (L) از تیره‌ی موردسانان (Myrtaceae) درختچه‌ای با ارتفاع ۱ تا ۳ متر است. این گیاه در استان‌های فارس، کرمان، بندرعباس، یزد و گیلان به‌صورت خودرو رشد می‌کند. این

1. Triterpenoid
2. β-caryophyllene
3. β-sinesal
4. Caryophyllene oxide

گیاه برگ‌هایی به رنگ سبز تیره و معطر دارد. همچنین گل‌های کوچک و زیبای مورد، رنگی سفید و بویی مخصوص دارند (Senfi *et al*., 2014). متابولیت‌های ثانویه‌ی عصاره‌ی متانولی گیاه مورد شامل مقادیر زیادی از ترپنوییدها (مونوترپن، ترپینئول و ترپینولن)، اسیدهای فنولی[1]، تانن‌ها، فلاونوییدکاتچین[2] (Romani *et al*., 2004) و روغن‌های فرار[3] است (Cakir, 2004). تجزیه و تحلیل شیمیایی عصاره‌ی مورد توسط وانس و همکاران نشان داد که لینالول[4]، لیمونن[5]، ۱، ۸- سینئول[6] و آلفا پینن[7] اجزای اصلی تشکیل‌دهنده‌ی این عصاره هستند (Wannes *et al*., 2010). ترپنوییدهای موجود در گیاه مورد (مونوترپن، ترپینئول[8] و ترپینولن[9]) باعث ایجاد اختلالات تنفسی می‌شوند (Aleksic *et al*., 2014). عصاره مورد همچنین با ایجاد لایه نفوذناپذیر و عایق هوا، مانع تنفس حشرات می‌شود (Snow *et al*., 2011). همچنین زاپاتا و اسماگ تأثیر منفی مونوترپن‌ها را بر فعالیت استیل‌کولین‌استراز گزارش کردند (Zapata and Smagghe, 2010).

در ایران و جهان پژوهش‌های چندی در رابطه با تأثیر عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهان گلدر و مورد روی حشرات مختلف انجام شده است (Salari, 2010; Khani, 2012; Tayoub, 2012; Shafiei *et al*., 2018)، ولی تاکنون تأثیر عصاره‌های این گیاهان بر سفیدبالک پنبه بررسی نشده است. از این‌رو، در تحقیق حاضر تأثیر عصاره‌های گیاهی گلدر و مورد در کنترل *B. tabaci* روی گوجه‌فرنگی در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد.

مواد و روش‌ها

پرورش گیاه گوجه‌فرنگی

برای انجام این پژوهش از بذر گوجه‌فرنگی رقم کالجی‌ان۳ (Kalj-N3) استفاده شد. برای انجام آزمایش، ابتدا بذرهای گوجه‌فرنگی در خاک کاشته شدند و زمانی که ارتفاع آن‌ها به چهار تا پنج سانتی‌متر رسید، نشاها به گلدان‌های پلاستیکی منتقل و به آن‌ها فرصت داده شد تا به ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر (پنج الی هفت برگی) برسند. گیاهان گوجه‌فرنگی در گلخانه با شرایط دمایی ۳±۲۷ درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی ۲±۵۰ درصد و دوره‌ی نوری ۸:۱۶ ساعت (روشنایی: تاریکی) نگهداری و به‌صورت یک روز در میان آبیاری شدند.

عصاره‌گیری

گیاه گلدر از جنوب استان فارس در فاصله‌ی ۲۰ کیلومتری جاده‌ی شیراز- جهرم (با طول جغرافیایی '۵۲°۶۳، عرض جغرافیایی '۲۹°۴۹ و ۱۴۷۴ متر ارتفاع از سطح دریا) و گیاه مورد از دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه شیراز جمع‌آوری و در شرایط سایه خشک شدند؛ سپس نمونه های خشک‌شده با استفاده از آسیاب الکتریکی (مدل صنعتی، ساخت شرکت شرق‌طوس‌آسان، ایران) خرد شده و به حالت پودر درآمدند. برای استخراج ماده‌ی مؤثر موجود در گیاهان، از متانول ۷۰ درصد (حاوی آب و متانول) شرکت مرک آلمان استفاده شد. میزان ۵۰ گرم از این پودر، به مدت ۴۸ ساعت در۷۵۰ سی‌سی متانول ۷۰ درصد (۱۵ برابر پودر خشک عصاره) خیسانده شد. ظرف توسط فویل آلومینیومی به طور کامل پوشانده شد تا از تابش نور به آن جلوگیری شود. این ظرف به مدت ۴۸ ساعت بی‌حرکت ماند و سپس عصاره‌ها با چند قیف شیشه‌ای تمیز، صاف شدند. عصاره‌ی استخراج شده توسط دستگاه تبخیرکننده‌ی چرخان در خلأ (Vacuum Rotary Evaporator) در دمای ۴۰ درجه سلسیوس و سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه تغلیظ شد؛ سپس عصاره‌ی تغلیظ شده به مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۴۰ درجه سلسیوس قرار داده شد تا به‌صورت کاملاً خشک درآید (Kesmati *et al*., 2006).

1. Phenolic acids
2. Catechin
3. Volatile oils
4. Linalool
5. Limonene
6. 1, 8- Cineole
7. α -Pinene
8. Terpineole
9. Terpinolene

زیست‌سنجی

برای پرورش سفیدبالک‌های مورد نیاز در انجام زیست‌سنجی با استفاده از دستگاه مکنده[1]، حشرات به‌صورت زنده در اواخر شهریور ماه ۱۳۹۴ از مزارع گوجه‌فرنگی منطقه‌ی زرقان فارس جمع‌آوری و به قفس‌های توری‌دار حاوی گلدان‌های گوجه‌فرنگی در گلخانه منتقل شدند. برای انجام زیست‌سنجی نیاز به استقرار همسانه‌ی انبوه از حشره‌ی مورد نظر وجود دارد (Yang *et al.*, 2010). برای این کار از قفس‌های برگی[2] استفاده شد. این قفس‌ها از لیوان‌های شفاف پلاستیکی یک‌بار مصرف (با قطر دهانه ۷ سانتی‌متر، قطر انتهایی ۴/۵ سانتی‌متر و ارتفاع ۸/۵ سانتی‌متر) ساخته شدند. طبق روش یانگ و همکاران در سال ۲۰۱۰، با استفاده از آسپیراتور تعداد ۱۲۰-۱۰۰ عدد سفیدبالک از همسانه‌ی پرورش به قفس‌های برگی منتقل شدند و به آن‌ها ۲۴ ساعت فرصت داده شد تا تخم‌گذاری کنند (Yang *et al.*, 2010)؛ سپس تمام سفیدبالک‌ها از قفس برگی به خارج از قفس انتقال داده شدند. برگ‌های حاوی تخم‌های هم‌سن از بوته‌های گوجه‌فرنگی جدا و به انتهای دمبرگ آن‌ها پنبه‌ی خیس پیچیده شد؛ سپس برگ‌ها درون ظروف پلاستیکی درب‌دار شفاف با ابعاد ۱۳×۱۸ سانتی‌متر و عمق هفت سانتی‌متر قرار داده شدند. به‌منظور تهویه دریچه‌ای به‌قطر ۱۲×۱۶ سانتی‌متر روی درب هر ظرف تعبیه و توسط توری با مش ۱۰۰ پوشیده شد. با این روش برگ‌ها در حدود یک هفته دوام داشتند. ظروف آزمایشی حاوی تخم‌های سفیدبالک تا زمان تفریخ آنها و خروج پوره‌های سن اول در دستگاه ژرمیناتور با دمای ۴±۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۲±۶۵ درصد با طول دوره‌ی نوری ۸:۱۶ ساعت (روشنایی: تاریکی) نگه‌داری شدند.

برای برآورد و مقایسه‌ی غلظت کشنده ۵۰ درصد[3] دو گیاه گلدر و مورد، محلول پایه که بالاترین غلظت در نظرگرفته شد بود، از حل کردن عصاره‌ی خشک‌شده این دو گیاه در حلال متانول (عصاره‌ی متانولی ۷۰ درصد) تهیه و سایر غلظت‌ها از محلول پایه ساخته شدند. ابتدا با یک آزمون مقدماتی غلظت‌های مختلفی از هر عصاره تهیه و به‌صورت جداگانه روی پوره‌های سن یک سفید بالک پنبه با چهار تکرار بررسی شدند. پس از انجام آزمون‌های مقدماتی و به‌دست آوردن فاصله‌ی غلظت‌ها، برای انجام آزمون اصلی از پنج غلظت به همراه شاهد استفاده شد. شاهد شامل متانول ۷۰ درصد بود. غلظت‌های اصلی برای انجام زیست‌سنجی در محدوده ۱/۴ گرم بر لیتر[4] تا ۴ گرم بر لیتر ۱/۴ ۱/۸ ۲/۳ ۳ و ۴ گرم بر لیتر) برای مورد و ۲ گرم بر لیتر تا ۵ گرم بر لیتر ۲ ۲/۵ ۳/۱ ۳/۹ و ۵ گرم بر لیتر) برای گلدر به دست آمدند. در آزمایش اصلی هم از چهار تکرار استفاده شد که هر تکرار شامل برگی حاوی ۱۰۰ عدد پوره‌ی سن یک بود. تلفات پس از ۲۴ ساعت با تحریک پوره‌ها با یک سوزن ظریف در زیر بینی‌کولار شمارش و ثبت شد.

بررسی کشندگی غلظت‌های مختلف

برای بررسی توان کشندگی غلظت‌های مختلف دو عصاره مورد مطالعه روی *B. tabaci*، درصد تلفات به ازای هر یک از تکرارهای مربوط به غلظت‌های مورد استفاده در زیست‌سنجی‌ها به دست آمد. سپس این سه عدد درصد تلفات (مربوط به سه تکرار) به ازای هر غلظت، برای مقایسه میانگین درصد تلفات غلظت‌های هرکدام از عصاره‌ها و یافتن موثرترین غلظت آن عصاره علیه این آفت استفاده شد.

بررسی اثر متقابل دو ترکیب گلدر و مورد

اثر متقابل دو عصاره‌ی گلدر و مورد با یک آزمایش فاکتوریل ۶×۶ و در قالب طرح کاملاً تصادفی، با ۳۶ تیمار و چهار تکرار برای هر تیمار اجرا شد. فاکتور اول، عصاره‌ی گیاه گلدر بود که در ۶ سطح (غلظت‌های استفاده شده در زیست سنجی) شامل صفر ۲، ۲/۵، ۳/۱، ۳/۹ و ۵ گرم بر لیتر و فاکتور دوم، عصاره‌ی گیاه مورد بود که در ۶ سطح (غلظت‌های استفاده شده در زیست سنجی) شامل صفر ۱/۴،

1. D-Vac
2. Clips-cage
3. LC_{50}
4. Ppm or part per million

۱/۸، ۲/۳، ۳ و ۴ گرم بر لیتر مورد آزمایش قرار گرفتند. به ازای هر تیمار از چهار تکرار و در هر تکرار از ۱۰۰ عدد پوره‌ی سن یک استفاده شد. حشرات در اتاقک رشد با شرایط دما و رطوبت ذکر شده در بالا قرار گرفتند و پس از ۲۴ ساعت تعداد تلفات در هر تکرار شمارش و ثبت شد.

نرم افزارها و طرح‌های آماری مورد استفاده

محاسبه‌ی غلظت‌های کشنده پنجاه درصد مربوط به دو عصاره‌ی مورد استفاده و مقایسه آنها با استفاده از نرم‌افزار پلوپلاس[1] انجام شد. بررسی معنی‌داری اختلاف کشندگی غلظت‌های مختلف دو ترکیب، به‌صورت واریانس یک‌طرفه (آنووا[2]) با استفاده از رویه‌ی GLM در نرم‌افزار SAS تجزیه و تحلیل شدند. برای مقایسه میانگین‌ها نیز از آزمون توکی[3] استفاده شد.

آزمون نرمال بودن باقیمانده‌ها و آزمون همگن- ناهمگن بودن واریانس‌ها نیز به ترتیب با روش‌های شاپیرو- ویلک[4] و بارتلت[5] در سطح ۵ درصد انجام شدند. میانگین حداقل مربعات تأثیر اصلی و اثر متقابل نیز در سطح معنی‌داری ۵ درصد مقایسه شدند (SAS Institute, 1999).

نتایج

زیست‌سنجی

نتایج زیست‌سنجی با پوره‌های یک روزه سفیدبالک پنبه نشان داد که میزان غلظت کشنده پنجاه درصد (LC_{50}) برای عصاره‌های مورد و گلدر به‌ترتیب شامل ۲/۵۶ و ۳/۳۹ گرم بر لیتر بود (جدول ۱). مقایسه آماری برای بررسی وجود اختلاف معنی‌دار بین این دو عصاره نشان داد که نسبت غلظت کشنده ۵۰ درصد[6] عصاره‌ی مورد به گلدر با فاصله اطمینان ۹۵ درصد برابر با ۰/۷۵۷ بوده و اختلاف گرم بر لیتر داشت (جدول ۱).

همچنین پروبیت درصد پاسخ (جدول ۱) نشان می‌دهد که خطوط غلظت-پاسخ مربوط به این دو ترکیب در سطح احتمال ۹۵٪ با هم موازی هستند، ولی بر هم منطبق نیستند.

مقایسه کشندگی غلظت‌های مختلف هر ترکیب

نتایج حاصل از تجزیه داده‌ها و مقایسه‌ی میانگین تلفات پوره‌های سن اول *B. tabaci* در غلظت‌های مختلف این دو عصاره نشان داد که با افزایش غلظت، درصد تلفات نیز به شکل معنی‌داری افزایش یافت و بین تمام غلظت‌های به کار برده شده اختلاف معنی‌داری وجود داشت. بیشترین تلفات معادل ۹۰/۲ درصد برای غلظت ۵ گرم بر لیتر گلدر و ۳/۸۶ درصد برای غلظت ۴۰۰۰ پی‌پی‌ام مورد به‌دست آمد (جدول ۲).

بررسی اثر متقابل عصاره‌های گلدر و مورد بر تلفات سفیدبالک *B. tabaci*

پس از انجام آزمایش‌های جداگانه مربوط به بررسی تأثیر کشندگی عصاره‌های گلدر و مورد روی سفیدبالک *B. tabaci*، اقدام به مقایسه‌ی اثر متقابل دو عصاره‌ی گلدر و مورد شد که نتایج آن در جدول ۳ نشان داده شده است.

همان‌گونه که نتایج جدول ۳ نشان می‌دهد، در اختلاط غلظت‌های مختلف دو عصاره مورد و گلدر، همراه با افزایش غلظت، درصد تلفات سفیدبالک پنبه نیز در بیشتر موارد افزایش یافته است. بیشینه‌ی میانگین تلفات در حالت استفاده از بالاترین غلظت عصاره‌ی گلدر بدون کاربرد عصاره مورد، ۹۰/۲ درصد و در استفاده از بالاترین غلظت عصاره‌ی مورد بدون استفاده از عصاره‌ی گلدر، ۸۶/۳ درصد بوده است؛ اما در حالت استفاده از عصاره‌ی ۵ گرم بر لیتر گلدر و ۴ گرم بر لیتر مورد در اختلاط با یکدیگر، در موثرترین اختلاط، ۹۷/۳ درصد تلفات ایجاد شد. با نگاهی به جدول مشخص می‌شود که بیشترین درصد تلفات در سطح ۵ گرم بر لیتر گلدر با سطوح ۲/۳ گرم بر لیتر، ۳ گرم بر لیتر و ۴ گرم بر لیتر مورد (به ترتیب در G5M3، G5M4 و G5M5) ایجاد شده است که به ترتیب ۹۵، ۹۶/۳ و ۹۷/۳ درصد تلفات را ایجاد کرده است؛ لازم به

1. PoloPlus: LeOra Software, Version 2.0, 2002-2019
2. ANOVA
3. Tukey
4. Shapiro-Wilk
5. Bartlett
6. Lethal concentration ratio of 50%

جدول ۱- نتایج زیست‌سنجی پوره‌های سن اول سفیدبالک پنبه (*Bemisia tabaci*) با عصاره گیاهان گلدر (*Rydingia persica*) و مورد (*Myrtus communis*)

Table 1. Bioassay results of the first instar nymphs of *Bemisia tabaci* with extracts of *Rydingia persica* and *Myrtus communis* plants

Treatment	LC_{50} (g/L)	95% confidence limits	χ^2 (df)	Slope±SE	LC_{50} ratio 95% confidence limits
Rydingia persica	3.39	(3.29-3.49)	10.164 (18)	4.7± 0.21	0.757 (0.726-0.791)*
Myrtus communis	2.56	(2.49-2.61)	2.259 (18)	4.9± 0.24	

* Lethal concentration ratio of 50% considered significant when its 95% confidence limits did not comprise the value 1.0 (Robertson *et al*., 2007).

جدول ۲- میانگین درصد تلفات سفیدبالک پنبه (*Bemisia tabaci*) در سطوح مختلف عصاره گلدر (*Rydingia persica*) و مورد (*Myrtus communis*)

Table 2. Mean percentage of *Bemisia tabaci* mortality in different levels of *Rydingia persica* and *Myrtus communis* extracts

Concentrations used of *Rydingia persica* extract (g/L)	% mortality (± SE)	Concentrations used of *Myrtus communis* extract (g/L)	% mortality (± SE)
2000	42.7 (± 0.22)^{e}	4/1	11.0 (± 0.22)^{e}
2500	54.1 (± 0.22)^{d}	8/1	23.8 (± 0.22)^{d}
3100	65.8 (± 0.22)^{c}	3/2	40.0 (± 0.22)^{c}
3900	76.6 (± 0.22)^{b}	3	64.5 (± 0.22)^{b}
5000	90.2 (± 0.22)^{a}	4	81.0 (± 0.22)^{a}

Means within a column followed by different letters are significantly different ($P < 0.05$)

ذکر است که همین درصد تلفات در سطح ۳/۹ گرم بر لیتر گلدر و ۴ گرم بر لیتر مورد (G4M5) نیز به دست آمد که برابر با ۹۵/۳ درصد بود.

البته در برخی موارد افزایش غلظت عصاره‌ها کاهش درصد تلفات را نیز به دنبال داشت. به عنوان مثال، زمانی که از غلظت ۴ گرم بر لیتر عصاره‌ی مورد با غلظت ۲ گرم بر لیتر عصاره‌ی گلدر (G1M5) استفاده شد، درصد تلفات سفیدبالک پنبه ۸۳/۳ درصد بود، اما زمانی که از غلظت ۴ گرم بر لیتر عصاره‌ی مورد با غلظت ۲/۵ گرم بر لیتر عصاره‌ی گلدر (G2M5) استفاده شد، درصد تلفات سفیدبالک پنبه به ۷۴/۳ رسید.

بحث

استفاده از ترکیبات گیاهی به صورت اسانس و عصاره از شیوه‌های مناسب مدیریت آفات محسوب می‌شود. عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی به طور معمول ترکیباتی کم‌خطر یا بی‌خطر برای محیط زیست هستند (Talebi Jahromi, 2012) و به طور معمول به علت فرگشت متقابل میان گیاه و حشره، مقاومت به این ترکیبات مشاهده نمی‌شود (Hedin, 1997)؛ بنابراین، استفاده از این ترکیبات در کنترل آفات می‌تواند به‌عنوان یکی از گزینه‌های مناسب برای معرفی به کشاورزان و کاربرد آنها علیه آفات باشد.

جدول ۳- میانگین درصد تلفات در سطوح مختلف اثر متقابل گلدر و مورد

Table 3. Average mortality percentages at different levels of interaction between *Rydingia persica* and *Myrtus communis*

Interaction	*Rydingia persica* (g/L)	*Myrtus communis* (g/L)	% mortality (± SE)	Interaction	*Rydingia persica* (g/L)	*Myrtus communis* (g/L)	% mortality (± SE)
G0M0	0	0	0.25 (0±.55)r	G3M0	3100	0	44.0 (0± .55) l
G0M1	0	1400	11.0 (0±.55)q	G3M1	3100	1400	48.0 (0± .55) j
G0M2	0	800	23.8 (0±.55)o	G3M2	3100	800	62.0 (0± .55) hi
G0M3	0	2300	40.0(0±.55)m	G3M3	3100	2300	70.5 (0± .55) g
G0M4	0	3000	64.5 (0±.55)h	G3M4	3100	3000	83.3 (0± .55) d
G0M5	0	4000	81.0 (0±.55)ed	G3M5	3100	4000	87.0 (0± .55) c
G1M0	2000	0	10.5 (0±.55)q	G4M0	3900	0	59.5 (0± .55) i
G1M1	2000	1400	16.3 (0±.55)P	G4M1	3900	1400	64.8 (0±.55)h
G1M2	2000	800	29.3 (0±.55)n	G4M2	3900	800	71.8 (0±.55)gf
G1M3	2000	2300	46.8 (0±.55)l	G4M3	3900	2300	83.8 (0±.55)d
G1M4	2000	3000	70.3 (0±.55)g	G4M4	3900	3000	90.8 (0±.55)b
G1M5	2000	4000	83.3 (0±.55)d	G4M5	3900	4000	95.3 (0±.55)a
G2M0	2500	0	30.0 (0±.55)n	G5M0	5000	0	79.3 (0±.55)e
G2M1	2500	1400	39.5 (0±.55)m	G5M1	5000	1400	83.0 (0±.55)d
G2M2	2500	800	50.0 (0±.55)j	G5M2	5000	800	90.8 (0±.55)b
G2M3	2500	2300	60.3 (0±.55)i	G5M3	5000	2300	95.0 (0±.55)a
G2M4	2500	3000	70.5 (0±.55)g	G5M4	5000	3000	96.3 (0±.55)a
G2M5	2500	4000	74.3 (0±.55)f	G5M5	5000	4000	97.3 (0±.55)a

Means within a column followed by the different letters are significantly different ($P< 0.05$)
"G" is abbreviation of Golder and "M" is abbreviation of Myrtle and every number next to them represents different concentration levels.

با توجه به نتایج تحقیق حاضر، سمیت عصاره‌ی گیاه مورد به صورت معنی‌داری از عصاره‌ی گیاه گلدر بیشتر است. عصاره‌ی گیاه گلدر با ایجاد تأثیر منفی در جذب مواد غذایی (مثل پروتئین)، اکسایش در لوله‌ی گوارش سفیدبالک پنبه و اختلال در پوست‌اندازی تأثیر خود را بر جای می‌گذارد. عصاره‌ی گیاه مورد نیز با بر جا گذاشتن تأثیر منفی در جذب مواد غذایی (به دلیل وجود تانن)، ایجاد اختلالات تنفسی و تأثیر زیاد بر سامانه عصبی باعث مسمومیت و در نهایت مرگ سفیدبالک پنبه می‌شود (Don-Pedro, 1989; Cakir, 2004; Romani *et al*., 2004; Snow *et al*., 2011; Aleksic *et al*., 2014). به احتمال، دلیل سمیت بیشتر عصاره‌ی مورد نسبت به گلدر این است که تأثیر تنفسی و عصبی سریع‌تر از اختلالات تغذیه‌ای خود را نشان می‌دهد. از آنجا که عصاره‌ی گیاه مورد روی سامانه تنفسی و عصبی حشره به صورت مستقیم تاثیر می گذارد و علاوه بر آن، اثر ضد تغذیه‌ای نیز از خود نشان می‌دهد، برای این حشره سمی‌تر است.

نتایج مربوط به بررسی تأثیر کشندگی عصاره‌های گیاهان گلدر و مورد روی سفیدبالک *B. tabaci* نشان دادند که زمانی که عصاره‌های این گیاهان همراه با یکدیگر به‌کاربرده می‌شوند، درصد تلفات سفیدبالک پنبه نسبت به زمانی که عصاره‌ها به‌صورت جداگانه به کار می‌روند، در بیشتر موارد به‌صورت معنی‌داری افزایش می‌یابد؛ به‌طوری‌که با اختلاط غلظت‌های به کار گرفته شده در زیست‌سنجی عصاره‌ها (بدون افزایش در میزان غلظت)، ۹۷/۳ درصد تلفات در سفیدبالک پنبه ایجاد شد که حدود ۱۷ درصد بیشتر از زمانی است که عصاره‌ها به‌صورت جداگانه استفاده می‌شوند. این موضوع بیانگر وجود اثر متقابل معنی‌دار میان این دو ترکیب گیاهی است. با توجه به اینکه هر چه عصاره‌ها در غلظت‌های بالاتری در این آزمون با یکدیگر مخلوط شدند، درصد تلفات افزایش یافت، شاید

بتوان گفت که چنانچه افزایش غلظت در اختلاط صورت گیرد، تلفات به صد درصد نیز برسد. نتایج به‌دست‌آمده در مطالعه‌ی حاضر در خصوص سمیت بیشتر عصاره‌ی مورد با نتایج ترابولسی و همکاران و آیواز و همکاران (Traboulsi *et al*., 2002; Ayvaz *et al*., 2010) مطابقت دارد. در مطالعه حاضر نیز عصاره‌ی گیاه مورد دارای سمیت بیشتر و تأثیر برجسته‌تری نسبت به عصاره‌ی گلدر بود. یاراحمدی و همکاران (Yarahmadi *et al*., 2012) کارایی محلول‌پاشی اسانس گیاه باریجه را برای کنترل سفیدبالک *B. tabaci* روی خیار گلخانه‌ای بررسی کردند و نشان دادند تمام غلظت‌های اسانس مذکور *B. tabaci* را به‌صورت مؤثری کنترل کردند و اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌ها وجود نداشت و با افزایش غلظت اسانس‌ها فقط میزان گیاه‌سوزی افزایش می‌یافت. نتایج به‌دست‌آمده در این مطالعه با نتایج یاراحمدی و همکاران (Yarahmadi *et al*., 2012) مغایرت دارد. در مطالعه‌ی حاضر با افزایش غلظت عصاره‌های مورد و گلدر، درصد تلفات سفیدبالک *B. tabaci* به‌صورت معنی‌داری افزایش یافت و با افزایش غلظت، هیچ‌گونه گیاه‌سوزی رخ نداد که البته این تفاوت به میزان زیادی به ماهیت ترکیب گیاهی به کار گرفته شده و در مرتبه بعدی شرایط آزمایشی متفاوت بستگی دارد.

با توجه به آثار مخرب آفت‌کش‌ها بر سلامتی انسان و محیط‌زیست باید جایگزین مناسبی برای آفت‌کش‌های شیمیایی در کنترل آفات یافت. یکی دیگر از عواقب استفاده از آفت‌کش‌های شیمیایی در کنترل آفات، ایجاد مقاومت در آنها است. نتایج پژوهش‌های زیادی در این زمینه بیانگر بی‌اثر شدن آفت‌کش‌ها به دنبال مقاوم شدن آفات هستند؛ از جمله می‌توان به نتایج پژوهش پرابهاکر و همکاران (Prabhaker *et al*., 1985) اشاره کرد که تأییدی بر ایجاد مقاومت در آفات پس از استفاده از آفت-کش‌های شیمیایی هستند. در جنوب کالیفرنیا، پرابهاکر و همکاران مقاومت سفیدبالک پنبه را به برخی حشره‌کش‌ها بررسی کرده و طیف گسترده‌ای از مقاومت به حشره‌کش‌های ارگانوفسفره را در سفیدبالک پنبه گزارش کردند. بیشترین مقاومت به متیل‌پاراتیون (Methyl parathion) و پس از آن به ترتیب به فنتیون (Fenthion) و مالاتیون (Malathion) مشاهده شد (Prabhaker *et al*., 1985).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که عصاره‌ی دو گیاه مورد و گلدر به‌ترتیب دارای توانایی کنترل مناسبی روی پوره‌های سنین پایین سفید بالک پنبه هستند و از آنجا که به طور معمول سنین پایین مراحل نابالغ حشرات حساسیت بیشتری نسبت به آفت‌کش‌ها، شامل ترکیبات سنتزی و طبیعی دارند و نتایج این پژوهش بار دیگر به خوبی این موضوع را تأیید کرد؛ بنابراین می‌توانند به عنوان ترکیباتی ایمن و کم‌خطر برای کنترل این دسته از آفات مورد پژوهش‌های بیشتر و در نهایت مورد استفاده کشاورزان قرار گیرند؛ به ویژه که خاصیت حشره‌کشی این ترکیبات برای آفات دیگری که در بالا به آنها اشاره شد نیز اثبات شده است.

References

Aleksic, V. and Knezevic, P. 2014**.** Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L. **Microbiological Research** 169(4): 240-254.

Arshad, M., Irfan Ullah, M., Sena Çağatay, N., Abdullah, A., Dikmen, F., Kaya, C., and Rasool Khan, R. 2019. Field evaluation of water plant extracts on sucking insect pests and their associated predators in transgenic *Bt* cotton. **Egyptian Journal of Biological Pest Control** 29 (39): 1-6.

Ateyyat, M. A., Al-Mazra'awi, M., Abu-Rjai, T. and Shatnawi, M. A. 2009**.** Aqueous extracts of some medicinal plants are as toxic as imidacloprid to the sweet potato whitefly, *Bemisia tabaci*. **Journal of Insect Science** 15(9): 1-6.

Ayvaz, A., Sagdic, O., Karaborklu, S. and Ozturk, I. 2010**.** Insecticidal activity of the essential oils from different plants against three stored-product insects. **Journal of Insect Science** 10(21): 1- 13.

Cakir, A. 2004. Essential oil and fatty acid composition of the fruits of *Hippophae rhamnoides* L. (Sea Buckthorn) and *Myrtus communis* L. from Turkey. **Biochemical Systematics and Ecology** 32(9): 809-816.

Chaubey, M. K. 2007. Toxicity of essential oils from *cuminum cyminum* (Umbelliferae), *Piper nigrum* (Piperaceae) and *Foeniculum vulgare*(Umbelliferae) against stored-product Beetle *Tribolium castaneum* Herbst (Coloptera: Tenebrionidae). **Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry** 6: 1719-1727.

Czaja, K., Góralczyk, K., Struciński, P., Hernik, A., Korcz, W., Minorczyk, M., Łyczewska, M. and Ludwicki, J. K. 2014. Biopesticides – towards increased consumer safety in the European Union**. Pest Management Science** 71(1): 3-6.

Don-Pedro, K. N. 1989**.** Mechanisms of action of some vegetable oils against *Sitophilus zeamais* motsch (Coleoptera: Curculionidae) on wheat**. Journal of Stored Products Research** 25(4): 217-223.

Glick, E., Levy, Y. and Gafny, Y. 2009**.** The viral etiology of tomato yellow leaf curl disease – a review. **Plant Protect Science** 3: 81-97.

Godfrey, C. 1994. Agrochemicals from natural products: CRC Press.

Hajhashemi, V., Rabbani, M., Asghari, G. R., and Karami-Saravi, Z. 2010. Effects of *Otostegia persica* (Burm.) Boiss on morphine withdrawal syndrome in mice. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research** 1: 171-175.

Hedin, P. A., Hollingworth, R. M., Masler, E. P., Miyamoto, J. and Thompson, J. D. 1997. Phytochemicals for Pest Control. American Chemical Society/Washington, D. C.

Hoffmann, K. H., and Lorenz, M. W. 1998. Recent advances in hormones in insect pest control. **Phytoparasitica** 26 (4): 323-330.

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

Kesmati, M., Raei, H. and Zadkarami, M. 2006. Comparison between sex hormones effects on locomotor activity behavior in presence of *Matricaria chamomilla* hydroalcholic extract in gonadectomized male and female adult mice. **Iranian Journal of Biology**19: 98-108 (In Farsi).

Khani, A. and Basavand, F. 2012. Chemical composition and insecticidal activity of myrtle (*Myrtus communis* L.) essential oil against two stored-product pests. **Journal of Medicinal Plants and By-products** 2: 83-89.

Koohestani, K., Sadeghi, Z. and Abdollahi, V. 2012. Overview of the application of *Otostegia persica* in traditional and modern medicine. Summary of articles of the National Conference on Natural Products and Medicinal Plants. 26-27 September, Bojnord. Iran. pp. 323. (In Farsi)

Nasr, M., Jalali Sendi, J., Moharramipour, S. and Zibaee, A. 2017. Evaluation of *Origanum vulgare* L. essential oil as a source of toxicant and an inhibitor of physiological parameters in diamondback moth, *Plutella xylustella* L. (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences** 16(2): 184-190.

Polston, J. E., Sherwood, T., Rosell, R., & Nava, A. 2001. Detection of tomato yellow leaf curl and tomato mottle virus in developmental stages of the whitefly vector, *Bemisia tabaci*. Third International Geminivirus Symposium, pp. 24-28.

Prabhaker, N., Coudriet, D. L. and Meyerdirk, D. E. 1985**.** Insecticide resistance in the sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). **Journal of Economic Entomology** 78(4): 748-752.

Robertson, J. L., Russell, R. M., Preisler, H. K. and Savin, N. E. 2007. Bioassays with arthropods (2nd edition). CRC Press/London.

Romani, A., Coinu, R., Carta, S., Pinelli, P., Galardi, C., Vincieri, F. F. and Franconi, F. 2004**.** Evaluation of antioxidant effect of different extracts of *Myrtus communis* L. **Free Radical Research** 38(1): 97-103.

Sadeghi, Z., Akaberi, M. and Valizadeh, J. 2014. *Otostegia persica* (Lamiaceae): A review on its ethnopharmacology, phytochemistry, and pharmacology. **Avicenna Journal of Phytomedicine** 4 (2): 79-88.

Salari, E., Ahmadi, K. and Zamani, R. 2010. Study on the effects of acetonic extract of *Otostegia persica* (Labiatae) on three aphid species and one stored product pest. **Advances in Environmental Biology** 4(3): 346-349.

Sarailoo, M. H. 2012. Investigating the effect of several plant extracts with detergent against *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Heteroptera: Aleyrodidae). **Journal of Plant Protection** 25(4): 351-357. (In Farsi)

SAS Institute Inc. 1999**.** SAS/GRAPH Software: Reference, Version 8, Cary, NC: SAS Institute Inc.

Senfi, F., Safaralizadeh, M. H., Safavi, S. A. and Aramideh, Sh. 2014**.** Evaluation of fumigant toxicity of *Laurus nobilis* L. and *Myrtus communis* L. essential oils on eggs and adult stage of the Cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* F. (Col.: Bruchidae). **Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants** 30(2): 222- 216. (In Farsi)

Sengupta, R., Sheorey, S. D. and Hinge, M. A. 2012. Analgesic and anti-inflammatory plants: an updated review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research** 12(2): 114-119.

Shafiei, F., Ahmadi, K. and Asadi, M. 2018. Evaluation of systemic effects of four plant extracts compared with two systemic pesticides, acetamiprid and pirimicarb through leaf spraying against *Brevicoryne brassicae* L. (Hemiptera: Aphididae). **Journal of Plant Protection Research** 58(3): 258–264.

Snow, N., McFadden, J., Evans Evans, T. M., Salywon Salywon, A. M., Wojciechowski, M. F. and Wilson, P. G. 2011**.** Morphological and molecular evidence of polyphyly in Rhodomyrtus (Myrtaceae: Myrteae). **Systematic Botany** 36(2): 390-404.

Talebi Jahromi, Kh. 2012**.** Pesticides Toxicology: Insecticides, Acaricide, raticide (5th ed.). Tehran University Press. (In Farsi)

Tayoub, G., Abualnaser, A. and Ghanem, I. 2012. Fumigant activity of leaf essential oil from *Myrtus communis* L. against the Khapra Beetle. **International Journal of Medicinal and Aromatic Plants** 2(1): 207-213.

Traboulsi, A. F., Taoubi, K., El-Haj, S., Bessiere, J. M. and Rammal, S. 2002**.** Insecticidal properties of essential plant oils against the mosquito *Culex pipiens molestus* (Diptera: Culicidae). **Pest Management Science** 58(5): 491-495.

Wannes, W. A., Mhamdi, B., Sriti, J., Jemia, M. B., Ouchikh, O., Hamdaoui, G., Kchouk, M. E. and Marzouk, B. 2010. Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from Myrtle (*Myrtus communis* var. italica L.) leaf, stem and flower. **Food and Chemical Toxicology** 48 (5): 1362-1370.

Yadegarinia, D., Gachkar, L., Rezaei, M. B., Taghizadeh, M., Astaneh, S. A. and Rasooli, I. 2006. Biochemical activities of Iranian *Mentha piperita* L. and *Myrtus communis* L. essential oils. **Phytochemistry** 67(12): 1249-1255.

Yang, N. W., Li, A. L., Wan, F. H., Liu, W. X. and Johnson, D. 2010**.** Effects of plant essential oils on immature and adult sweet potato whitefly, *Bemisia tabaci* biotype B. **Crop protection** 29(10): 1200-1207.

Yarahmadi, F., Rajabpour, A., Zandi Sohani, N. and Ramezani, L. 2012**.** Application of Artemisia essential oil for Control of *Bemisia tabaci* Gen in Greenhouse Cucumber**.** Summary of articles of the National Conference on Natural Products and Medicinal Plants. 26-27 September, Bojnord. Iran. pp. 312. (In Farsi)

Zapata, N. and Smagghe, G. 2010. Repellency and toxicity of essential oils from the leaves and bark of Laurelia sempervirens and *Drimys winteri* against *Tribolium castaneum*. **Industrial Crops and Products** 32 (3): 405-410.

.

Plant Pest Research
2019- 9 (3): 29-39

Effect of golder (*Rydingia persica*) and myrtle (*Myrtus communis*) extracts in controlling *Bemisia tabaci* on tomato under laboratory conditions

M. Alichi*, S. Roosta, F. Bagheri and K. Minaei
Department of Plant Protection, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran

(Received: August 8, 2019- Accepted: October 23, 2019)

Abstract

The use of herbal extracts as natural compounds in pest control is one of the most promising prospects for reducing future chemical pesticide use. The present study was conducted to evaluate *in vitro* effects of Golder and Myrtle extracts and also interaction between obtained different levels of concentrations for controlling *Bemisia tabaci*, on tomato under laboratory conditions. Plant extracts were used at 5 levels plus control. The effects of plant extracts and their interactions on *B. tabaci*, as well as lethal concentrations were determined. Concentrations of 0, 2, 2.5, 3.1, 3.9 and 5 g/L from Golder and 0, 1.4, 1.8, 2.3, 3 and 4 g/L from Myrtle were investigated. Experiments were done at 27±3 ℃ temperature, relative humidity of 50±6 %and the photoperiod of 16:8 hours L:D. Results showed that the median lethal concentration (LC_{50}) amounts of myrtle and golder were respectively 2.56 and 3.39 g/L and they were significantly different with each other (P<0.05). Also Golder extract up to 5 g/L concentration and the extract of Myrtle up to 4 g/L concentration, whitefly mortality was increased. The maximum mortality rates of *B. tabaci* related to the plant extracts were 79.8 percent at 5 g/L concentration of Golder, and 81 percent at 4 g/L concentration of Myrtle, respectively. Analysis of the interaction between the whitefly *B. tabaci* and the plant extracts showed that the maximum mortality was due to interaction between Golder at the level of 5 g/L, with Myrtle concentration of 2.3 g/L, 3 g/L and 4 g/L, created 95 %, 96.3 % and 97.3 % mortality, respectively.

Key words: Interaction, median lethal concentration, methanolic extract, concentration-response line

* Corresponding author: aalichi@shirazu.ac.ir