

ارزیابی کارایی فرمولاسیون 1.28% EC چریش، *Azadirachta indica*، روی کنه تارتن دولکه‌ای، *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) در شرایط آزمایشگاهی و صحرایی

ساناز شاکرمی^۱، احمد حیدری^{۲*} و مسعود اربابی^۳

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، جهرم، ۲- بخش تحقیقات آفتکش‌ها، مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، تهران، ۳- بخش تحقیقات جانورشناسی، مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، تهران.

*مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: heidari419@yahoo.com

Efficacy of the EC 1.28% formulation of Neem, *Azadirachta indica*, on two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae), in laboratory and field conditions

S. Shakarami¹, A. Heidari^{2,*} and M. Arbabi³

1. Islamic Azad University, Unit Jahrom, Jahrom, Iran, 2. Pesticides Research Department, Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran, Iran, 3. Agricultural Zoology Research Department, Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran, Iran.

*Corresponding author, E-mail: heidari419@yahoo.com

چکیده

تأثیر کنه‌کشی فرمولاسیون جدید 1.28% EC چریش روی کنه تارتن دولکه‌ای، *Tetranychus urticae* Koch، در مقایسه با نیم‌آزال[®] (1% EC) و کنه‌کش اسپیرودیکلوفن در شرایط آزمایشگاهی و مزرعه ارزیابی گردید. در آزمایش‌های زیست‌سنجی از روش غوطه‌ورسازی برگ استفاده شد. ابتدا برگ‌های لوبیا در غلظت‌های مختلف تیمارها غوطه‌ور شده و سپس کنه‌های بالغ هم‌سن روی برگ‌ها رهاسازی و پس از ۲۴ ساعت میزان تلفات آن‌ها تعیین گردید. آزمایش‌ها در دمای ۲۵ ± ۲ °C، رطوبت نسبی ۶۰ ± ۵ درصد و دوره نوری ۱۶:۸ (تاریکی: روشنایی) ساعت انجام شد. مقادیر LC₅₀ و سایر پارامترها با نرم‌افزار POLO-PC تعیین شدند. مطالعات مزرعه‌ای نیز در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با پنج تیمار شامل غلظت‌های یک، دو و سه در هزار چریش 1.28% EC، غلظت ۰/۵ در هزار اسپیرودیکلوفن و یک در هزار نیم‌آزال[®] انجام شد. تیمار شاهد آب‌پاشی گردید. مقدار LC₅₀ به‌دست آمده برای نیم‌آزال[®]، اسپیرودیکلوفن و فرمولاسیون 1.28% EC چریش به‌ترتیب برابر با ۵۲/۰۴، ۳۷/۵۵ و ۲۱/۰۶ میلی‌گرم/لیتر بود که نشانگر حساسیت بیش‌تر کنه تارتن دولکه‌ای به فرمولاسیون 1.28% EC چریش است. نتایج آزمایش‌های مزرعه‌ای نشان داد که بیش‌ترین تأثیر تیمارها در نوبت‌های سه و هفت روز برای کنترل مراحل فعال جمعیت کنه تارتن دولکه‌ای به‌ترتیب ۱/۷ ± ۸۹/۳ و ۲/۳ ± ۷۷/۸ درصد برای کنه‌کش اسپیرودیکلوفن و کم‌ترین آن ۴/۰۴ ± ۶۴/۴ و ۲/۹ ± ۶۸/۷ درصد برای نیم‌آزال[®] بود. این در حالی است که فرمولاسیون 1.28% EC با دز سه در هزار به‌ترتیب با ۲/۴ ± ۸۲/۸ و ۳/۹ ± ۷۰/۲ درصد کنترل، با کنه‌کش اسپیرودیکلوفن اختلاف معنی‌دار نداشت. **واژگان کلیدی:** فرمولاسیون 1.28% EC چریش، اسپیرودیکلوفن، نیم‌آزال[®]، کنه تارتن دولکه‌ای

Abstract

The acaricidal activity of new formulation of Neem EC 1.28% was compared with Neem Azal[®] (EC 1%) and spirodiclofen against the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch, under both laboratory and field conditions. The method of leaf dipping was used for bioassay experiments. The common bean leaves were dipped into different concentrations of treatments before exposing them to the adult mites from the same age. The mortality for mites was recorded after 24 hours. The experiment was conducted under 25 ± 2°C, RH 60 ± 5 %, and 16: 8 (L: D) h photoperiod conditions. LC₅₀ and related parameters were calculated, using POLO-PC software. The field studies were conducted in randomized complete block design with five treatments of 1 ml/l, 2 ml/l and 3 ml/l of EC 1.28% formulation, 0.5 ml/l spirodiclofen and 1 ml/l of Neem Azal[®]. Plain water was used for the control group. The LC₅₀ values for Neem Azal[®], spirodiclofen and Neem EC 1.28% formulation were 52.04 mg/l, 37.55 mg/l and 21.06 mg/l, respectively. The results showed that mites were more susceptible to the new EC 1.28% formulation. In the field, spirodiclofen was found to be the most effective compound after 3 and 7 days of treatment causing 89.3 ± 1.7% and 77.8 ± 2.3% mortality, while Neem Azal[®] was less effective with 64.40 ± 4.04% and 68.7 ± 2.9% mortality on mites. The new EC 1.28% formulation was used at the rate of 3 ml/l, which caused 82.8 ± 2.4% and 70.2 ± 3.9% mortality, without significant difference with spirodiclofen treatment.

Key words: Neem EC 1.28% formulation, spirodiclofen, Neem Azal[®], two spotted spider mite

مقدمه

هستند و در طبیعت نیز به‌سرعت تجزیه می‌شوند (Tamas, 1990; Isman, 2000). بررسی‌ها نشان می‌دهد که تاکنون تحقیقات زیادی درخصوص کارایی ترکیبات با

حشره‌کش‌های با منشأ گیاهی عموماً برای انسان و سایر پستانداران و همچنین دشمنان طبیعی کم‌خطر

Neemark[®] و Repelin[®], Azatin[®], Ackook[®], Nemidin[®] (Abdul Aziz & Henry, 1992; Santos *et al.*, 1997; Soliman & Tewfick, 1999). مطالعات مختلف نشان داده است که ۱۹۵ گونه حشره که به حشره‌کش‌های سنتتیک مقاوم شده‌اند، با عصاره چریش قابل کنترل هستند (Menn, 1990; Lindquist & Casey, 2001).

کنه‌های گیاهی نیز باتوجه به اهمیتی که دارند در این مطالعات مورد توجه بوده‌اند. به‌عنوان مثال، تأثیر کشندگی روغن چریش روی جمعیت کنه‌های سبز کاساوا، *Mononychellus tanajoa* (Bondar) بررسی شده و نتایج نشان داده است که این ماده اثرات کشندگی و زیرکشندگی قابل توجهی روی مراحل رشدی آفت دارد (Amanda & Silva, 2013). در بررسی تأثیر روغن چریش روی جمعیت کنه‌های تارتن و کنه شکارگر *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot نیز مشخص شده که این ماده در کاهش تخم‌ریزی کنه تارتن مؤثر ولی در حلال پنتان (pentane) روی کنه شکارگر بی‌اثر بوده است (Mansour *et al.*, 1986).

در بین انواع کنه‌های گیاهی، خسارت کنه تارتن دولکه‌ای، *Tetranychus urticae* Koch، به‌دلیل انتشار جهانی گسترده، دامنه میزبانی وسیع، خسارت شدید (مستقیم و غیرمستقیم)، نرخ بالای افزایش جمعیت و نیز توانایی در ایجاد مقاومت در برابر آفت‌کش‌ها حائز اهمیت است (Nicholas *et al.*, 1998). یکی از بزرگ‌ترین مشکلات در رابطه با کنه تارتن دولکه‌ای، سرعت بالای مقاوم شدن آن به کنه‌کش‌ها می‌باشد، به‌طوری‌که تاکنون مقاومت این کنه به بیش از ۸۰ کنه‌کش گزارش شده است (Miresmailli & Isman, 2006). بروز مقاومت در میان بندپایان از یک سو و تقاضا برای محصولات عاری از سموم از سوی دیگر، پژوهشگران را وادار کرده است که روش‌های بالقوه دیگر و با خطرات کم‌تر را برای حفاظت محصولات مورد ارزیابی قرار دهند.

منشاء گیاهی، عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی روی آفات مختلف انجام شده است. گیاه چریش یکی از گیاهان با خواص آفت‌کشی است که در طی ۲۵ سال گذشته تحقیقات وسیعی درباره تأثیر آن به‌عنوان حشره‌کش، کنه‌کش، دورکننده حشرات و تنظیم‌کننده رشد انجام شده و این بررسی‌ها هنوز نیز ادامه دارد. ترکیبات فعال چریش کم‌ترین میزان سمیت را برای پستانداران دارند و دارای ماندگاری کم روی گیاهان و همچنین دارای اثرات انتخابی روی دشمنان طبیعی آفات هستند (Lindquist & Casey, 2001; Caboni *et al.*, 2006; Isman, 2006; Khater, 2012).

درخت چریش با نام علمی *Azadirachta indica* (= *Melia azadirachta*) از خانواده Meliaceae، بومی کشورهای هندوستان، برمه، پاکستان، سریلانکا، بنگلادش و مالزی است و در آنجا در مناطق کم‌آب و جنگلی به‌طور خودرو رشد می‌کند. این گونه احتمالاً از هندوستان وارد ایران شده و هم‌اکنون در نواحی گرم جنوبی کشور مانند بندرعباس، چابهار و میناب پراکنده است (Sadeghi, 1996). ماده‌ای که بیش‌ترین فعالیت حشره‌کشی را دارد از مغز دانه چریش استخراج می‌شود. آزادیراختین (azadirachtin) مخلوطی از جزء ایزومریک به نام‌های آزادیراختین A تا آزادیراختین G است که آزادیراختین A بیش‌تر مورد توجه است. عصاره قطبی و غیرقطبی حدود ۲۴ ترکیب متفاوت در آزادیراختین وجود دارد که مخلوط این اجزاء به‌طور مشخص، افزایش تحمل یا مقاومت را در هر موجود کاهش می‌دهد (Verkerk & Wright, 1993).

خواص آفت‌کشی گیاه چریش موجب شده است که فرآورده‌های حاصل از آن به شکل‌های مختلف فرموله شوند و برای کنترل آفات مورد استفاده قرار گیرند، از قبیل فرمولاسیون‌های Azal[®]، Neemar[®]، Nemecidin[®]، Nemidin[®]، Neemplus[®]، Neemarin[®].

۶ × ۱۲ × ۱۷ سانتی‌متر قرار داده شد. این ظروف در انکوباتور در شرایط دمایی و رطوبتی مذکور قرار گرفت و پس از ۲۴ ساعت، برگ‌های دارای تخم کنه به ظروف جدید منتقل گردید و از کنه‌های ماده بالغ هم‌سن جهت آزمایش‌های زیست‌سنجی استفاده شد.

ترکیبات مورد آزمایش در زیست‌سنجی شامل فرمولاسیون چریش تولیدشده در مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور (EC 1.28%)، نیم‌آزال® (EC 1%) ساخت شرکت BB Park آلمان، و کنه‌کش اسپیرودیكلوفن (spirodiclofen) (SC 24%) یا انویدور® (Envidor®) ساخت شرکت Bayer Crop Science آلمان بود. برای انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی از روش غوطه‌ور نمودن برگ استفاده شد (Cahill et al., 1995). بدین‌منظور، برگ‌های لوبیا به قطر شش سانتی‌متر در محلول سمی با غلظت‌های مشخص غوطه‌ور گردید و در ظروف پتری به قطر شش سانتی‌متر قرار داده شد. سپس، ۲۰ عدد کنه بالغ هم‌سن روی برگ‌ها رهاسازی و در شرایط اتاقک رشد نگهداری شدند. میزان مرگ‌ومیر کنه‌ها پس از گذشت ۲۴ ساعت یادداشت شد. برای انجام آزمایش اصلی زیست‌سنجی، از شش غلظت و هرکدام در سه تکرار به‌همراه شاهد استفاده گردید. دامنه غلظت‌های مورد استفاده در آزمایش‌های زیست‌سنجی برای اسپیرودیكلوفن، نیم‌آزال® و فرمولاسیون EC 1.28% به‌ترتیب ۷۰-۲۰، ۸۵-۳۰ و ۴۰-۱۰ میلی‌گرم/لیتر بود. در این تحقیق، میزان مرگ‌ومیر به‌عنوان عکس‌العمل در نظر گرفته شده بود، بنابراین برای تشخیص کنه مرده از زنده ابتدا توسط قلم‌مو به کنه ضربه زده می‌شد و در صورت عدم مشاهده تحرک در پاها، آن کنه مرده به‌حساب می‌آمد.

برای برآورد LC_{50} ، شیب خط، Chi-square، درجه آزادی، حدود اطمینان غلظت‌های مورد نظر و فرضیه موازی بودن و معادل بودن خطوط رگرسیون

در ایران تحقیقات درخصوص بررسی کارایی ترکیبات با منشأ گیاهی عمدتاً استفاده از عصاره‌ها و اسانس‌های استخراج‌شده از گیاهان را شامل می‌شود که به‌دلیل عدم وجود یک فرمولاسیون مشخص، امکان بهره‌برداری تجاری از آن‌ها میسر نبوده است. فرمولاسیون EC 1.28 چریش برای اولین‌بار با استفاده از روغن طبیعی کنجد و مواد همراه Tween85 و Span 85 در مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور تهیه شد. بررسی اثر گیاه‌سوزی فرمولاسیون مذکور نشان داد که هیچ‌گونه تغییر رنگ قابل مشاهده و یا گیاه‌سوزی در برگ‌های لوبیا ایجاد نمی‌کند (Heidarializadeh, 2008). نظر به پتانسیل‌های ترکیب چریش در کنترل آفات، در تحقیق حاضر تأثیر فرمولاسیون EC 1.28% روی کنه تارتن دولکه‌ای مورد بررسی قرار گرفت. تحقیقات تکمیلی درخصوص این فراورده ایمن و با منشأ گیاهی، اقدامی مهم در راستای تجاری‌سازی و کاربرد آن در کنترل مهم‌ترین آفات کشاورزی خواهد بود.

مواد و روش‌ها

پرورش کنه تارتن دولکه‌ای

کنه تارتن دولکه‌ای از برگ‌های لوبیای آلوده جمع‌آوری و پس از شناسایی توسط نگارنده سوم، روی گیاه لوبیا، رقم سان‌ری، پرورش داده شد. گیاهان آلوده به کنه درون قفسه‌هایی با ابعاد ۶۰ × ۶۰ × ۶۰ سانتی‌متر و دارای تهویه مناسب قرار داده شده و در شرایط دمایی ۲۰ ± ۲°C، رطوبت نسبی ۵ ± ۶۰ درصد و دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند.

برای انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی ابتدا کنه‌های ماده هم‌سن تهیه شدند. بدین منظور تعداد ۱۰ عدد کنه نر و ماده با قلم‌موی سه‌صفر از برگ‌های آلوده جدا و روی برگ‌های لوبیا در ظروف یک‌بارمصرف به ابعاد

نتایج

آزمایش‌های زیست‌سنجی

بر اساس نتایج آزمایش‌های زیست‌سنجی، مقادیر LC_{50} سموم نیم‌آزال[®]، اسپیرودیکلوفن و فرمولاسیون EC 1.28% چریش به ترتیب برابر با ۵۲/۰۴، ۳۷/۵۵ و ۲۱/۰۶ میلی‌گرم/لیتر برآورد گردید، و نشان داد که کنه تارتن دولکه‌ای نسبت به فرمولاسیون EC 1.28% چریش با کم‌ترین LC_{50} حساسیت بیش‌تری دارد (جدول ۱). مقایسه حد بالا و پایین LC_{50} سموم مورد آزمایش در سطح ۹۵٪ نشان داد که حساسیت کنه تارتن دولکه‌ای نسبت به فرمولاسیون EC 1.28% چریش با هر دو سم نیم‌آزال[®] و اسپیرودیکلوفن اختلاف معنی‌دار دارد. همچنین، نتایج نشان داد که حساسیت این کنه نسبت به اسپیرودیکلوفن بیش‌تر از نیم‌آزال[®] است و از این نظر اختلاف معنی‌دار وجود دارد.

فرضیه موازی بودن خطوط رگرسیون پس از بررسی با نرم‌افزار POLO-PC مورد تأیید قرار گرفت. این وضعیت حاکی از عدم وجود اختلاف معنی‌دار در ضریب زاویه خطوط رگرسیون است ($P < ۰/۰۵$). به عبارتی در بررسی شیب خطوط رگرسیون به صورت دو به دو شامل نیم‌آزال[®] و اسپیرودیکلوفن، فرمولاسیون EC 1.28% چریش و اسپیرودیکلوفن، و همچنین خطوط رگرسیونی نیم‌آزال[®] و فرمولاسیون EC 1.28% چریش مشخص گردید که این خطوط موازی بودند. با توجه به تأیید نظریه موازی بودن خطوط می‌توان سمیت نسبی (relative potency) را محاسبه کرد و مقایسه بهتری از سمیت ترکیبات مختلف روی کنه دولکه‌ای به دست آورد (Robertson & Preisler, 1992; Held, 2008). محاسبه سمیت نسبی که در حقیقت نسبت سمیت ترکیبات مختلف روی کنه می‌باشد، نشان داد که این نسبت در فرمولاسیون EC 1.28% چریش به اسپیرودیکلوفن برابر (۰/۶۴-۰/۴۹) ۰/۵۶، فرمولاسیون

(hypothesis of parallelism and equality) از نرم‌افزار POLO-PC استفاده شد (LeOra software, 1987). مقایسه سمیت ترکیبات بر اساس روش Robertson *et al.* (2007) انجام شد.

آزمایش بررسی میزان کارایی ترکیبات مورد نظر در کنترل کنه دولکه‌ای در شرایط مزرعه‌ای

برای این منظور، آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار، هریک شامل ردیف‌های پنج‌متری بوته‌های بادمجان کشت شده در سطح مزرعه، انجام شد. تیمارها شامل چریش EC 1.28 تولیدشده در مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی با غلظت یک، دو، و سه در هزار، نیم‌آزال[®] با غلظت یک در هزار و کنه‌کش اسپیرودیکلوفن با غلظت ۰/۵ در هزار بود. تیمار شاهد آب‌پاشی گردید. نمونه‌برداری از کنه‌های زنده در فواصل یک روز قبل از سم‌پاشی و نیز سه، هفت و ۱۴ روز بعد از سم‌پاشی انجام شد. با نمونه‌برداری از ۳۰ برگ بوته‌های لوبیا که از قسمت‌های تحتانی، میانی و فوقانی بوته‌ها انتخاب شده بودند، کارایی تیمارها ارزیابی شد. جمعیت کنه‌های زنده بالغ و نابالغ در سطح زیرین برگ با استفاده از میکروسکوپ تشریح شمارش شد. درصد کارایی هر تیمار توسط فرمول هندرسون-تیلتون تعیین گردید:

$$\text{درصد کارایی} = \left(1 - \frac{T_a \times C_b}{T_b \times C_a}\right) \times 100$$

T_a = میانگین تعداد آفت در تیمار بعد از سم‌پاشی

T_b = میانگین تعداد آفت در تیمار قبل از سم‌پاشی

C_a = میانگین تعداد آفت در شاهد بعد از سم‌پاشی

C_b = میانگین تعداد آفت در شاهد قبل از سم‌پاشی

داده‌های حاصله با کمک نرم‌افزار MSTAT-C

تجزیه واریانس شدند و مقایسه میانگین تیمارها با آزمون چنددامنه‌ای دانکن انجام شد.

چریش با دز سه در هزار بعد از کنه‌کش اسپیرودیکلوفن در رتبه دوم به لحاظ تأثیر قرار دارد.

نتایج آماری میانگین تلفات کنه تارتن در هفت روز بعد از سم‌پاشی نشان داد که بین تیمارها اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($F = 2/82$; $df = 4, 8$; $P < 0/05$).

میانگین تأثیر در تیمارهای کنه‌کش اسپیرودیکلوفن، چریش EC 1.28% با دز دو در هزار، نیم‌آزال[®]، چریش EC 1.28% با دز سه و یک در هزار، در هفت روز بعد از سم‌پاشی به ترتیب معادل $2/3 \pm 0/77$ ، $3/2 \pm 0/64$ ، $2/9 \pm 0/78$ ، $3/9 \pm 0/70$ ، $4/8 \pm 0/62$ بود که نشان داد همچنان اسپیرودیکلوفن و فرمولاسیون EC 1.28% با دز سه در هزار بالاترین میزان کشندگی، و فرمولاسیون EC 1.28% با دز یک در هزار کم‌ترین تأثیر را در کنترل کنه تارتن دولکه‌ای داشتند (جدول ۲).

نتایج آماری میانگین تلفات کنه تارتن در ۱۴ روز بعد از سم‌پاشی نشان داد که بین تیمارها و بلوک اختلاف معنی‌دار وجود ندارد ($F = 7/63$; $df = 4, 8$).

EC 1.28% چریش به نیم‌آزال[®] برابر $0/39$ ($0/31-0/45$) و اسپیرودیکلوفن به نیم‌آزال[®] برابر $0/7$ ($0/63-0/79$) بود. این مقادیر نشان‌دهنده سمیت بالاتر فرمولاسیون EC 1.28% چریش نسبت به دو ترکیب دیگر است.

نتایج آزمایش‌های مزرعه‌ای روی کنه دولکه‌ای

تجزیه واریانس داده‌های مربوط به میانگین تلفات کنه تارتن در سه روز بعد از سم‌پاشی نشان داد که بین تیمارها تفاوت آماری معنی‌دار وجود دارد ($F = 10/63$; $df = 4, 8$; $P < 0/05$). میانگین تأثیر در تیمارهای کنه‌کش اسپیرودیکلوفن، چریش EC 1.28% با دزهای سه، دو و یک در هزار، و نیم‌آزال[®]، سه روز بعد از سم‌پاشی به ترتیب معادل $1/7 \pm 0/82$ ، $3/3 \pm 0/89$ ، $4/4 \pm 0/82$ بود که نشان داد اسپیرودیکلوفن بالاترین و نیم‌آزال[®] کم‌ترین تأثیر را در کنترل کنه تارتن دولکه‌ای داشتند (جدول ۲). مقایسه میانگین تلفات نشان داد که فرمولاسیون EC 1.28%

جدول ۱- برآورد سمیت حاد فرمولاسیون EC 1.28% چریش، نیم‌آزال[®] و اسپیرودیکلوفن روی کنه تارتن دولکه‌ای.

Table 1. Estimation of acute toxicity of Neem EC 1.28% formulation, Neem Azal[®] and spirodiclofen to the two-spotted spider mite.

Pesticide	n	Slope ± SE	LC ₅₀ (ppm)	LC ₉₀ (ppm)	Chi-square	df
			(Confidence limits 95%)	(Confidence limits 95%)		
Neem EC 1.28%	360	3.7 ± 0.5	21.06 (17.8-24.09)	58.3 (46.5-76.4)	4.14	4
Neem Azal [®]	360	3.06 ± 0.63	52.04 (45.8-58.6)	95.8 (95.5-133.6)	4.16	4
Spirodiclofen	360	3.7 ± 0.46	37.55 (33.6-41.6)	104.4 (84.6-125.5)	5.75	4

جدول ۲- مقایسه میانگین درصد کارایی تیمارها روی جمعیت مراحل فعال کنه دولکه‌ای در روزهای پس از سم‌پاشی بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن.

Table 2. Mean comparison of treatment efficiency (%) on population of active stages of the two-spotted spider mite in the various days after spraying according to multiple Duncan rang test method.

Treatments	Concentration (Field rate, PPM)	After three days (Mean ± SE)	After seven days (Mean ± SE)	After 14 days (Mean ± SE)
Neem EC 1.28%	1000	69.9 ± 3.5 cd	62.9 ± 4.8 b	45 ± 4.2 a
Neem EC 1.28%	2000	76.8 ± 3.2 bc	64.3 ± 3.2 b	48.3 ± 4.4 a
Neem EC 1.28%	3000	82.8 ± 2.4 ab	70.2 ± 3.9 a	46.4 ± 4.7 a
Neem Azal [®]	1000	64.4 ± 4.04 d	68.7 ± 2.9 ab	47.6 ± 4 a
Spirodiclofen	500	89.3 ± 1.7 a	77.8 ± 2.3 a	56.9 ± 4.6 a

The means of each column has at least one common letter are not significantly different based on Duncan's multiple range test ($P > 0.05$).

رگرسیون نشان می‌دهد که با تغییر دز و یا غلظت، میزان عکس‌العمل موجود به چه نسبت تغییر می‌کند. هرچه میزان شیب خط بیش‌تر باشد نشان می‌دهد که با تغییرات جزئی در دز و یا غلظت، میزان عکس‌العمل به‌شدت تغییر می‌یابد و تعداد زیادی از افراد جمعیت تحت تأثیر قرار می‌گیرند.

مقایسه خطوط رگرسیون دز پاسخ نقش مهمی در ارزیابی بیولوژیکی ترکیبات مختلف دارد. یکی از مهم‌ترین کاربردهای این روش، مقایسه قدرت تأثیرگذاری ترکیبات روی موجودات زنده است (Villeneuve et al., 2000). اما این مقایسه زمانی انجام می‌شود که خطوط رگرسیون نسبت به یکدیگر موازی باشند. معمولاً این نوع مقایسه در دز مؤثر ۵۰٪ انجام می‌گیرد (Robertson & Preisler, 1992; Held, 2008). باتوجه به تأیید نظریه موازی بودن خطوط می‌توان سمیت نسبی را محاسبه و مقایسه بهتری از سمیت ترکیبات مختلف به‌دست آورد. محاسبه سمیت نسبی که در حقیقت نسبت سمیت ترکیبات مورد نظر روی کنه بود، نشان داد سمیت فرمولاسیون EC 1.28% چریش نسبت به دو ترکیب دیگر در شرایط آزمایشگاهی بالاتر است. بررسی کارایی ترکیبات مورد نظر در شرایط مزرعه نشان داد که تأثیر فرمولاسیون EC 1.28% چریش (با غلظت سه در هزار) و کنه‌کش اسپیرودیکلوفن در هفت روز پس از سم‌پاشی یکسان بود و به‌لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نداشت. هرچند نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که کارایی فرمولاسیون EC 1.28% چریش در شرایط آزمایشگاهی و مزرعه‌ای نسبت به ترکیبات مورد مقایسه در حد قابل قبولی قرار دارد ولی کارایی فرمولاسیون مذکور در شرایط مزرعه‌ای نسبت به ترکیب اسپیرودیکلوفن مقداری کاهش نشان می‌دهد. احتمالاً شرایط آب و هوایی مزرعه، نور و رطوبت موجب شده است که مقداری از کارایی فرمولاسیون

در ۱۴ روز بعد از سم‌پاشی، میزان کارایی تمامی تیمارها کاهش یافت. بیش‌ترین کاهش تأثیر در مقایسه با نوبت هفت روز برای چریش EC 1.28% با دز دو در هزار و به مقدار تقریباً ۲۲ درصد ثبت شد (جدول ۲).

بحث

برآورد مقادیر Chi-square در آزمایش‌های زیست‌سنجی نشان داد که داده‌های هر آزمایش به‌خوبی با مدل پروبیت برازش (fit) شده‌اند. زیرا مقادیر Chi-square محاسبه‌شده باتوجه به درجه آزادی مربوطه نسبت به مقادیر جدول کم‌تر هستند. بر این اساس امکان بهره‌گیری از سایر پارامترهای به‌دست‌آمده از محاسبات برای تجزیه و تحلیل نتایج آزمایش امکان‌پذیر است. نتایج زیست‌سنجی نشان داد که حساسیت کنه دولکه‌ای در شرایط آزمایشگاهی نسبت به فرمولاسیون EC 1.28% چریش، اسپیرودیکلوفن و نیم‌آزال[®] متفاوت است و این کنه حساسیت بالایی نسبت به فرمولاسیون EC 1.28% چریش در مقایسه با دو ترکیب دیگر دارد.

در بررسی شیب خطوط رگرسیون بصورت دو به دو شامل نیم‌آزال[®] و اسپیرودیکلوفن، فرمولاسیون EC 1.28% چریش و اسپیرودیکلوفن و همچنین خطوط رگرسیون نیم‌آزال[®] و فرمولاسیون EC 1.28% چریش مشخص شد که این خطوط موازی بودند. شیب خطوط پروبیت می‌تواند بیان‌کننده کیفیت آنزیم‌های غیرسمی‌کننده ترکیبات باشد (Hardman et al., 1959; Kuperman et al., 1961). بنابراین، خطوط موازی ممکن است نشانگر این باشد که موجودات زنده دارای کیفیت یکسان آنزیم‌های غیرسمی‌کننده هستند، درحالی‌که به‌لحاظ کمی این نوع آنزیم‌ها متفاوت می‌باشند (Robertson & Preisler, 1992). همچنین، شیب خطوط

و به دنبال آن، گیج و مغشوش شدن حشره از لحاظ مغزی و بدنی اتفاق می‌افتد، به طوری که دیگر قادر به تولید مثل نخواهد بود. مورد اخیر باعث کاهش جمعیت و از بین رفتن چنین حشراتی می‌شود. در برخی موارد نیز حشرات پس از خوردن برگ‌ها یا دیگر قسمت‌های گیاه آغشته به ترکیبات چریش، دچار مسمومیت فوری شده و از بین می‌روند (Deshpande et al., 1980).

یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های اثر چریش روی کنه‌ها، مسمومیت تغذیه‌ای و در نهایت کشندگی است. زمانی که کنه روی برگ یا هر اندام گیاهی آغشته به این ترکیب مستقر شده و از آن تغذیه می‌کند، به دلیل وجود آزادیراختین، سالانین و ملاندریول در ترکیب چریش اسپری‌شده روی گیاه، دچار مسمومیت شده و در نهایت از بین می‌رود (Sadre et al., 1983).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که کنه تارتن دولکه‌ای، هم در شرایط آزمایشگاهی و هم در شرایط مزرعه‌ای، حساسیت نسبتاً بالایی در مقابل فرمولاسیون EC 1.28% چریش تولیدشده در مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی نسبت به دو ترکیب دیگر دارد. بنابراین، باتوجه به تأثیر این فرمولاسیون در کنترل کنه تارتن دولکه‌ای، می‌توان از آن به‌عنوان یک کاندیدا به‌منظور تولید محصول سالم و به حداقل رسانیدن مصرف کنه‌کش‌های شیمیایی، در تحقیقات تکمیلی استفاده نمود. همچنین، همان‌گونه که خواص آفت‌کشی قابل قبول چریش سبب شده است که فرمولاسیون‌های مختلفی با نام‌های تجاری متفاوت، مانند Vemidin[®]، Repelin[®]، Azatin[®]، Ackook[®]، Nemidin[®]، Nimbecidin[®] و Neemark[®]، تولید و به بازار عرضه شوند (Prakash & Rao, 1999)، امید است با تأثیر قابل قبولی که این فرمولاسیون تولید داخل از خود نشان داده است، به تدریج زمینه تجاری‌سازی و کاربرد آن در کشور نیز فراهم گردد.

EC 1.28% کاسته شود. بنابراین، ضروری است با انجام اصلاحات و اضافه کردن نگه‌دارنده‌ها کارایی این فرمولاسیون را در شرایط مزرعه‌ای افزایش داد.

مطالعات صورت‌گرفته توسط سایر محققین نیز مؤید خاصیت آفت‌کشی قابل قبول فرمولاسیون‌های مشتق‌شده چریش است. بررسی کارایی سه فرمولاسیون مختلف مشتق‌شده از چریش شامل NeemPro[®] (۸۱/۰) و ۷۱/۶ میلی‌گرم ماده مؤثر در لیتر، Natuneem[®] (۳۱/۱) و ۲۰/۴ میلی‌گرم ماده مؤثر در لیتر و Organic Neem[®] (۳۹/۱) و ۳۰/۴ میلی‌گرم ماده مؤثر در لیتر) روی تارتن *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard روی بوته‌های گوجه‌فرنگی گلخانه‌ای نشان داد که دزهای بالاتر، کنترل بیش‌تری روی جمعیت کنه داشتند و با گذشت زمان تأثیر آن‌ها روند نزولی به‌خود می‌گرفت (Soto et al., 2010). همچنین، شدت بالای خاصیت تخم‌کشی آزادیراختین روی تخم‌های پشه مالاریا، *Culex pipiens* L. مشاهده شده و در مواردی میزان آن ۱۰۰ درصد بوده است (Soliman & Tewfick, 1999). در تحقیقاتی که توسط Namvar et al. (2001) پیرامون تأثیر فرمولاسیون تجاری عصاره چریش (Neem Azal-T/S[®]) در مقایسه با سموم متداول علیه مگس مینوز برگ سبزی انجام شد، مشخص گردید که میزان تأثیر دو غلظت ترکیب تجاری چریش با حشره‌کش‌های کلرپایریفوس و آبامکتین هیچ تفاوت آماری معنی‌داری ندارد.

در مطالعه‌ای دیگر روی چریش و مکانیسم اثر آن مشخص گردید که عناصر به‌دست آمده از درخت چریش فرم و ساختاری نزدیک و مشابه به هورمون‌های حیاتی حشرات دارند. بدن حشرات آفت این عناصر را به‌عنوان هورمون‌های واقعی جذب می‌کند، درحالی‌که این ترکیبات سیستم اندوکراین بدن آن‌ها را مسدود می‌کنند. در نتیجه، ناهنجاری‌های رفتاری و فیزیولوژیکی،

منابع

- Abdul Aziz, S. A. & Henry, S. B.** (1992) *Pest management and the environment in 2000*. 401 pp. C.A.B. International Agriculture Institute, Malaysia.
- Amanda, C. B. & Silva, R.** (2013) Toxicity of Neem oil to the cassava green mite *Mononychellus tanajoa* (Bondar) (Acari: Tetranychidae). *Chilean Journal of Agricultural Research* 73(3), 315-319.
- Caboni, P., Sarais, G., Angioni, A., Garcia, A. J., Lai, F., Dedola, F. & Camras, P.** (2006) Residues and persistence of Neem formulations on strawberry after field treatment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54, 10026-10032.
- Cahill, M., Bymne, F. J., Gorman, K., Denholm, I. & Devonshire, A. L.** (1995) Pyrethroid and organophosphate resistance in the tobacco whitefly *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Bulletin of Entomological Research* 85, 181-187.
- Deshpande, V. Y., Mendukar, K. N. & Sadre, N. L.** (1980) Male antifertility activity of *Azadirachta indica* in mice. *Journal of Postgraduate Medicine* 26, 167-70.
- Hardman, H. F., Moore, J. I. & Lum, B. K. B.** (1959) A method for analyzing the effect of pH and ionization of drugs upon cardiac tissue with special reference to pentobarbital. *Journal of Pharmacological and Experimental Therapeutics* 126, 136-142.
- Heidarializadeh, A.** (2008) Studying of possibility of Neem EC formulation (emulsifiable concentrate) production. Final report of project. Iranian Research Institute of Plant Protection.
- Held, P.** (2008) Determination of relative potency using parallel line analysis with Gen5™ data analysis software. Parallelism analysis. BioTek Application Note. Available from: http://www.biotek.com/resources/docs/Parallel_Line_analysis-2_appnote.pdf (accessed December 2013).
- Isman, M. B.** (2000) Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection* 19, 603-608.
- Isman, M. B.** (2006) Botanical insecticides, deterrents and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology* 51, 45-66.
- Khater, H. F.** (2012) Prospects of botanical biopesticides in insect pest management. *Pharmacologia* 3(12), 641-656.
- Kuperman, A. S., Gill, E. W. & Riker, W. F.** (1961) The relationship between cholinesterase inhibition and drug-induced facilitation of mammalian neuromuscular transmission. *Journal of Pharmacological and Experimental Therapeutics* 132, 65-73.
- Leora Software** (1987) *POLO-PC: a users' guide to probit or logit analysis*. 22 pp. LeOra software, Berkeley.
- Lindquist, R. K., & Casey, M. L.** (2001) Evaluation of oil, soap and natural product derivative for leaf miner, foxglove aphid, western flower thrips, and greenhouse whitefly control. *Ohio Florists Assosiation Bulletin* 727, 3-5.
- Mansour, F. A., Ascher, K. R. S. & Omari, N.** (1986) Toxicity of Neem (*Azadirachta indica*) seed kernel extracts prepared with different solvents, on the spider *Ciracanthium mildei*. *Phytoparasitica* 14(1), 73-76.
- Menn, J. J.** (1990) USDA interest in Neem research. pp. 1-3 in Locke, J. C. & Lawson, R. H. (Eds) *Proceedings of a Workshop on Neem's Potential in Pest Management Programs*. USDA-ARS, Beltsville, MD. ARS-86.
- Miresmailli, S. & Isman, M. B.** (2006) Efficacy and persistence of rosemary oil as an acaricide against two spotted spider mite (Acari: Tetranychidae). *Journal of Economic Entomology* 99(6), 2015-2023.
- Namvar, P., Safaralizadeh, M. H. & Baniameri, V.** (2011) Effect of commercial neem extract NeemAzal-T/S on controlling leafminer *Liriomyza sativae* Blanchard (Diptera: Agromyzidae) in comparison with common synthetic insecticides. *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture* 2(7), 89-97.

- Nicholas, C. L., Parrella, M. P. & Alteri, M. A.** (1998) Advances and perspectives in the biological control of greenhouse pests with special reference to Colombia. *Integrated Pest Management Review* 3(2), 99-109.
- Prakash, A. & Rao, J.** (1999) *Botanical pesticide in agriculture*. 461 pp. Lewis Publisher, CRC.
- Robertson, J. L. & Preisler, H. K.** (1992) *Pesticide bioassays with arthropods*. 127 pp. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Robertson, J. L., Russel, R. M., Preisler, H. K. & Savin, N. E.** (2007) *Bioassays with arthropods*. 199 pp. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Sadeghi, A.** (1996) Studying of *Bemisia tabaci* susceptibility to chemical pesticides and Neem and examination of its behavioral characteristics and reactions to Neem and light traps. M. Sc. Thesis. Urmia University.
- Sadre, N. L., Deshpande, V. Y., Menduikar, K. N. & Nandal, D. H.** (1983) Male antifertility activity of *Azadirachta indica* in different species. *Proceedings of the 2nd International Neem Conference*, 473-482.
- Santos, J. P., Prates, H. T., Waquil, J. M. & Oliveria, A. B.** (1997) Evaluation of plant-origin substances on the control of stored product pests. *Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo* 19, 8-10.
- Soliman, B. A. & Tewfick, M. K.** (1999) Activity and efficacy of Azadirachtin (Neem production) on the eggs of the filarial vector, *Culex pipiens* (Dip: Cuicidae). *Journal of Union Arab Biology* 12(A), 33-41.
- Soto, A., Venzon, M., Oliveira, R. M., Oliveira, H. G. & Pallini, A.** (2010) Alternative control of *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard (Acari: Tetranychidae) on tomato plants grown in greenhouses. *Neotropical Entomology* 39(4), 638-344.
- Tamas, K. T.** (1990) *Study on the production possibilities of botanical pesticides in developing African countries*. 98 pp. Unido Press.
- Verkerk, R. H. & Wright, D. J.** (1993) Biological activity of Neem seed kernel extracts and synthetic azadirachtin against larvae of *Plutella xylostella*. *Pesticide Science* 37, 83-89.
- Villeneuve, D. L., Blankenship, A. L. & Ciesy, J. P.** (2000) Derivation and application of relative potency estimates based on in vitro bioassay results. *Environmental Toxicology and Chemistry* 79(77), 2835-2843.