

بررسی اثر سمیت عصاره ساقه و برگ گیاه گزنه *Urtica dioica* روی شته توتون

Myzus nicotianae

Study the toxicity effect of *Urtica dioica* stem and leaf extract on tobacco aphid

Myzus nicotianae

مرضیه شازده احمدی*

دریافت: ۹۹/۶/۵

پذیرش: ۹۹/۱۰/۹

چکیده

شته توتون *Myzus nicotianae* Blackman, 1987 یکی از آفات مهم توتون بوده و به صورت مستقیم و غیرمستقیم، موجب کاهش کمی و کیفی محصول توتون می‌گردد. امروزه برای کنترل آفات، از انواع حشره‌کش‌های شیمیایی استفاده می‌شود. با توجه به این‌که عصاره‌های گیاهی ماندگاری کمی در محیط زیست داشته و سمیت کمی برای انسان، پستانداران و سایر جانداران غیرهدف دارند، جایگزین مناسبی برای اثرات سوء حشره‌کش‌های شیمیایی محسوب می‌شوند. در این تحقیق، خاصیت حشره‌کشی عصاره برگ و ساقه گیاه گزنه روی شته توتون مورد بررسی قرار گرفت. آزمایشات در دمای 25 ± 2 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 70 ± 5 درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انجام شد. بعد از استخراج عصاره آبی ساقه و برگ گزنه به روش خیساندن، برای انجام آزمایشات زیست‌سنجی، تعداد ۱۵ عدد حشره کامل بی‌بال شته روی کاغذ صافی قرار داده شد و اثر کشندگی دو عصاره مذکور در پنج غلظت متفاوت (۰/۵، ۱، ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌لیتر در لیتر) در چهار تکرار روی درصد تلفات شته توتون مورد بررسی قرار گرفت. غلظت کشنده ۵۰ درصد (LC50) با استفاده از برنامه پروبیت محاسبه شد. نتایج نشان داد که عصاره برگ گزنه با $LC50 = 3/08 \text{ mL/L}$ سمیت بیشتری نسبت به عصاره ساقه گزنه با $LC50 = 5/11 \text{ mL/L}$ داشت. به طوری که کاربرد عصاره برگ گزنه با غلظت ۱۵ میلی‌لیتر بر لیتر پس از ۴۸ ساعت موجب ۱۰۰ درصد مرگ و میر در شته توتون شد که در مقایسه با عصاره ساقه گزنه (با ۹۰ درصد مرگ و میر) به طور معنی‌داری بیشتر بود. در مجموع، نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان داد که عصاره هر دو اندام گیاهی به‌ویژه عصاره برگ گزنه از قدرت خوبی برای کنترل شته توتون برخوردار می‌باشند.

واژگان کلیدی: عصاره، اثر حشره‌کشی، شته توتون، گزنه، زیست‌سنجی

مقدمه

شته‌ها از بالا خانواده Ahidoidea و از راسته نیم‌بالان Hemiptera هستند. این حشرات به واسطه ظاهر گلابی شکل، وجود یک جفت کورنیکول در قسمت عقبی سطح پشتی حلقه ششم شکم و شاخک‌های نسبتاً بلند تشخیص داده می‌شوند. شته‌ها از آفات پلی‌فاژ، با اهمیت اقتصادی زیاد و با طیف میزبانی گسترده‌ای از گیاهان بوده که در سرتاسر جهان پراکنش داشته و در اکثر گلخانه‌ها، مزارع و باغات خسارت ایجاد می‌کنند. این حشرات به دلیل عادات مختلف زندگی و ارتباط مستقیم با محصولات اولیه مورد نیاز بشر، موقعیت ویژه‌ای را در بین آفات کشاورزی به خود اختصاص داده اند (اسدی و زکی‌زاده، ۱۳۹۱).

شته‌ها جزء آفات مکنده هستند و به میزان زیادی از شیره گیاهی تغذیه کرده و موجب پیچیدگی و چروکیدگی برگ‌ها، اختلال در فتوسنتز، زرد شدن برگ‌ها، ریزش، بدشکلی، خشکیدگی و در نهایت از بین رفتن کامل برگ‌ها و کاهش شدید کیفیت محصول می‌گردند. این آفات همچنین باعث تولید عسلک شده که موجب ایجاد دوده (بستر رشد قارچ فوماژین) روی برگ‌ها و رشد قارچ‌های ساپروفیت شده و باعث انتقال بیش از یک‌صد نوع ویروس گیاهی نیز می‌گردند. شته‌ها حشراتی هستند که به دلیل تولیدمثل بالا، بکرزایی، زنده‌زایی و چندشکلی می‌توانند نسبت به آفت‌کش‌های مختلف مقاوم شوند (رضوانی، ۱۳۸۰).

توتون *Nicotiana tabacum* L. گیاهی از خانواده بادمجانیان Solanaceae و از نظر اقتصادی یکی از مهم‌ترین گیاهان زراعی در دنیا است. در ایران، سطح زیر کشت آن در سال ۱۳۸۹ برابر با ۵۰۸۴ هکتار و تولید برگ خشک توتون معادل ۸۰۰۰ تن گزارش شده است. مناطق کشت توتون سیگارت در ایران، در استان‌های گلستان (۵۲/۶ درصد)، مازندران (۲۷/۷ درصد)، کردستان (۹/۶۵ درصد)، گیلان (۸/۸۵ درصد) و آذربایجان غربی (۱/۲ درصد) گزارش شده است (زمانی، ۱۳۸۹).

شته توتون *Myzus nicotianae* Blackman, 1987 یکی از آفات مهم توتون بوده و به‌صورت مستقیم از طریق مکیدن شیره گیاهی و غیرمستقیم از طریق انتقال عوامل بیماری‌زای گیاهی و نیز اختلال در فتوسنتز گیاه به دلیل ترشح عسلک و پیچاندن برگ‌ها، موجب کاهش شدید کمی و کیفی محصول توتون می‌گردد. اندازه بدن شته بالغ ۲/۷-۳ میلی‌متر است. پوره‌ها به رنگ صورتی تا قرمز روشن، سبز روشن تا سبز متمایل به زرد و شته‌های بالغ ماده، به فرم بدون بال و قرمز تیره رنگ هستند (Blackman, 1987). روی بوته‌های توتون، عمده خسارت مربوط به تغذیه پوره‌ها و حشرات بالغ ماده بی‌بال بوده که باعث کاهش شدید شیره گیاهی و خشک شدن بوته‌ها می‌گردند (Blackman and Wastop, 2000). در اثر تغذیه این حشره، برگ‌های آلوده توتون سبز متمایل به زرد و گاهی قرمز رنگ به نظر رسیده و حول محور برگ پیچ خورده و لوله می‌شوند. این حشره، زمستان را به صورت تخم‌های سیاه و براق روی سرشاخه‌ها و تنه درختان میوه هسته‌دار می‌گذراند و سه نسل خود را روی میزبان اول (درختان هسته‌دار) سپری کرده و سپس در اواسط بهار، شته‌های بال‌دار ظاهر می‌شوند؛ آن‌گاه میزبان اول را ترک کرده و به طرف میزبان دوم مهاجرت می‌کنند و پس از استقرار روی بوته‌های توتون به طریق بکرزایی تولیدمثل خود را ادامه می‌دهند. شته توتون، بیشتر در پشت برگ‌های انتهایی بوته متمرکز شده و شروع به تغذیه از شیره گیاهی می‌کند. این شته، چندین نسل در سال را روی میزبان دوم (توتون) تشکیل می‌دهد. در پایان فصل زراعی، شته‌های بال‌دار مزارع توتون را ترک کرده و مجدداً بر روی میزبان اول تخم‌ریزی می‌کنند. این تخم‌ها قادر هستند که شرایط نامساعد سال را تحمل کنند (Masukwedza et al., 2013). در بررسی عکس‌العمل‌های مختلف توتون نسبت به شته توتون *M. nicotianae* مشخص شد که حساس‌ترین رقم توتون نسبت به این آفت رقم بارلی ۲۱ و TI165 بودند (رستم‌کلایی مطلق و گودرزیان، ۱۳۸۱).

در سال‌های اخیر، گرایش زیادی به افزایش بازده محصولات کشاورزی وجود دارد. در این راستا، کاربرد بی‌رویه سموم آفت‌کش، مشکلاتی جدی نظیر سمیت مستقیم برای پارازیتوئیدها، شکارگرها، گرده افشان‌ها، ماهی‌ها و انسان، بروز مقاومت در آفات نسبت به آفت‌کش، باقی‌مانده سم در محصولات، اثرات سوء زیست‌محیطی و غیره را به دنبال

داشته است. به همین دلیل، در سال‌های اخیر، استفاده از حشره‌کش‌های گیاهی و جایگزین شدن آن‌ها با حشره‌کش‌های شیمیایی برای مدیریت آفات پیشنهاد می‌شود (Clements *et al.*, 2000). زیرا ترکیبات گیاهی در مقایسه با حشره‌کش‌های شیمیایی، با محیط زیست سازگارتر و دارای سمیت کمی برای پستانداران و موجودات غیرهدف بوده و دوام و پایداری کمی در محیط دارند. علاوه بر این، اکثر حشره‌کش‌های شیمیایی، دشمنان طبیعی و مفید آفات را از بین می‌برند و از این طریق باعث افزایش جمعیت آفات می‌شوند. بنابراین، استفاده از عصاره‌های گیاهی به‌عنوان روش جایگزین برای کنترل آفات در حال گسترش می‌باشد. عصاره‌های گیاهی، ترکیبات پیچیده‌ای از زیرساخت‌های طبیعی تولید شده توسط گیاهان هستند (سالاری و همکاران، ۱۳۹۰).

به منظور دست یافتن به یک نتیجه مطلوب در کنترل آفات مهم کشاورزی، می‌توان با استفاده از ترکیبات جایگزین مناسب، کاربرد بی‌رویه سموم شیمیایی که دارای اثرات مخرب حاد و مزمن روی انسان و محیط زیست است را کاهش داد. استفاده از ترکیبات گیاهی جهت کنترل آفات از زمان‌های قدیم متداول بوده است. امروزه در سرتاسر جهان، تمایل برای یافتن گیاهان جدید که دارای منابع غنی از حشره‌کش‌های بیولوژیک هستند، افزایش یافته است. این اقدام، گامی موثر در جهت حفظ و سلامت محیط زیست است (پهلوان یلی و محمدی انایی، ۱۳۹۶).

در اکثر نقاط کشور ما گونه‌های متفاوتی از گیاهان با خواص حشره‌کشی مختلف وجود دارد که با بررسی اثر آن‌ها روی آفات و شناسایی ترکیبات ثانویه موجود در آن‌ها می‌توان از این ترکیبات جهت کنترل آفات استفاده نمود (زرگری، ۱۳۷۵).

گیاه گزنه با نام علمی *Urtica dioica* L. گیاهی از تیره گزنه، علفی و پایا با ساقه‌ای منشعب است. ساقه آن راست و چهارگوش بوده و برگ‌های آن پوشیده از کرک‌های گزنده است. گزنه گیاهی است بسیار مفید و خودرو و به‌دلیل خارک‌های ریز و لطیف پرزدار موجود در آن به نام گزنه نامیده می‌شود. برگ‌های این گیاه به شکل قلب بوده و دارای شیارهای شفاف بر روی ساقه‌ای بلند و صاف است که گاهی ۳۰-۲۰ سانتی‌متر و حتی تا یک متر ارتفاع آن‌را می‌پوشاند. گیاهی است چند ساله که دارای ریشه‌های ضخیمی در زیر خاک است و هر سال دوباره رشد و نمو می‌کند (زرگری، ۱۳۷۵). این گیاه مصارف غذایی و دارویی بسیار زیادی داشته و یکی دیگر از مصارف آن در بهبود کشاورزی و دفع دسته‌ای از آفات طبیعی از جمله انواع شته و شپشک‌های مضر و بهبود محیط زیست می‌باشد (Bozsik, 1996).

گیاه گزنه *U. dioica* در طب سنتی ایران کاربردهای فراوانی دارد، از جمله این‌که به‌عنوان داروی کمکی در درمان دیابت معرفی شده است. همچنین گزنه به‌عنوان ضد التهاب، کاهنده قند خون و فشار خون، مدر، ضد درد، بی‌حس‌کننده موضعی، رفع التهاب و رفع اختلاط خونی به‌کار می‌رود. به تازگی از این گیاه در درمان بیماری‌های عفونی، کاهش علائم آرتروز و کاهش التهاب مفاصل استفاده شده است. ترکیبات موجود در گیاه گزنه شامل فلاونوئیدها، ترکیبات آب‌دوست مانند لکتین و پلی ساکاریدها، اسید فرمیک، اسید استیک و اسید بوتیریک می‌باشند (Zammali, 2017).

مهم‌ترین ترکیبات شناسایی شده به‌وسیله دستگاه گاز کروماتوگرافی- طیف سنجی جرمی (GC/MS) در عصاره اندام‌های مختلف گیاه گزنه دو پایه *U. dioica* شامل Neophytadiene (۲۵/۲۱ درصد)، Bis Z-ethyl hexyl maleate (۶/۳۲ درصد)، Dibutyl phtaleate (۷/۳۷ درصد)، Phtaleic acid (۸/۱۵ درصد) و Carboxylic acid 1, 2- benzenedi (۷/۶۲ درصد) بوده‌اند که مقدار این ترکیبات در برگ گزنه نسبت به سایر اندام‌ها دارای بیشترین مقدار بوده است (مرادی و امینی، ۱۳۹۶).

استخراج عصاره و اسانس از تعداد بی‌شماری از گیاهان، منفعتهای زیادی را برای بشر داشته است. تاکنون نتایج خوبی از نحوه کنترل آفات با ترکیبات گیاهی حاصل شده است. صالحی امیری (۱۳۹۳)، اثرات زیستی عصاره‌های آقظی، گزنه، تمشک و سرخس عقابی را روی کنه تارتن دو نقطه‌ای (*Tetranychus urticae*) بررسی نمود. نتایج اولیه نشان داد که عصاره آبی تمشک، اصلاً کارایی مناسبی برای کنترل این آفت نداشته است. بیشترین مرگ و میر ایجاد شده توسط عصاره آبی سرخس عقابی (۸۹/۴۹ درصد) و بعد از آن مربوط به عصاره گزنه (۷۶/۲۶ درصد) و کمترین

مرگ و میر مربوط به عصاره آقطی (۶/۱۲ درصد) به دست آمد. در بررسی دوام کشندگی عصاره‌ها مشخص شد که عصاره گزنه تا ۴۸ ساعت دوام بسیار بالایی داشت. بعد از آن، به ترتیب عصاره سرخس عقابی، عصاره آقطی و عصاره تمشک قرار گرفتند. درصد کاهش تخم‌گذاری در کنه‌های تیمار شده با عصاره گزنه (۹۸/۹۲ درصد) بیش از سایر عصاره‌ها بود.

نام‌دار (۱۳۹۱)، خواص حشره‌کشی عصاره گیاهان گزنه *U. dioica* و آقطی *Sambucus ebulus* را روی دو گونه از آفات مهم محصولات انباری شپشه آرد *Tribolium confusum* و شپشه برنج *Sitophilus oryzae* مورد بررسی قرار داد. نتایج حاصل نشان داد که درصد مرگ و میر شپشه آرد در بالاترین غلظت (500 mg/ml) عصاره گیاه آقطی پس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت به ترتیب ۰/۲۰، ۰/۲۳ و ۰/۳۰ و عصاره گیاه گزنه در بالاترین غلظت (180 mg/ml) به ترتیب ۰/۸۳، ۰/۹۵ و ۰/۱۰۰ بود. همچنین درصد مرگ و میر روی شپشه برنج در بالاترین غلظت (500 mg/ml) در عصاره گیاه آقطی پس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت به ترتیب ۰/۲۸، ۰/۳۲ و ۰/۳۶ و در بالاترین غلظت (50 mg/ml) عصاره گیاه گزنه به ترتیب ۰/۸۱، ۰/۹۱ و ۰/۱۰۰ بود. مقدار LC50 محاسبه شده پس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت برای عصاره گزنه روی شپشه آرد به ترتیب ۴۳/۹۶، ۲۸/۶۸ و ۲۴/۵۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای عصاره آقطی به ترتیب ۴۸/۷۵، ۸۲۱/۹۲۱ و ۶۵۹/۵۹ میلی‌گرم بر لیتر و مقدار LC50 محاسبه شده پس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت برای عصاره گزنه روی شپشه برنج به ترتیب ۳۲/۸۵۵، ۲۵/۱۰۹ و ۲۱/۸۵۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای عصاره آقطی ۷۴۳/۵۳، ۶۳۲/۰۹ و ۵۶۸/۲۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تعیین گردید. در مجموع، نتایج داده‌های به دست آمده از این تحقیق نشان داد که عصاره گیاه گزنه روی شپشه آرد و شپشه برنج دوام بیشتری نسبت به عصاره گیاه آقطی دارد.

شخصی زارع و همکاران (۱۳۹۴)، اثرات دورکنندگی عصاره اتانولی گیاهان خارشر *Alhagi camelorum* F و گزنه *U. dioica* بر شپشه آرد *T. castaneum* ارزیابی نمودند. با توجه به نتایج حاصل، بالاترین مقدار دورکنندگی مربوط به گیاه گزنه (۰/۷۶/۶) پس از گذشت زمان ۱۰ ساعت به دست آمد و کمترین مقدار آن در ارتباط با گیاه خارشر (۰/۳/۳) پس از یک ساعت حاصل شد. همچنین در تمامی غلظت‌ها مقدار دورکنندگی گزنه بیشتر از خارشر بود. نتایج حاصل حاکی از آن بود که عصاره گیاه گزنه پتانسیل بیشتری نسبت به گیاه خارشر به منظور دورکنندگی شپشه آرد دارد.

سالاری و همکاران (۱۳۹۰)، اثر حشره‌کشی عصاره اتانولی دانه گیاه زیتون تلخ *Melia azedarach* L. را روی شته جالیز *Aphis gossypii* و شته سبز هلو *M. persicae* در شرایط آزمایشگاهی ارزیابی و گزارش نمودند که در غلظت ۶۰ میکرولیتر، درصد تلفات این عصاره در شته جالیز به طور معنی‌داری بیشتر از شته سبز هلو بوده است.

پهلوان یلی و محمدی انایی (۱۳۹۶)، اثر عصاره اتانولی دانه زیتون تلخ و پوست لیموترش را در سه غلظت متفاوت (۱۰، ۵۰ و ۸۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) روی درصد تلفات شته مومی کلم *Brevicoryne brassicae* L. و شته سبز گندم *Schizaphis graminum* مورد بررسی قرار داده و گزارش کردند که کاربرد عصاره اتانولی دانه زیتون تلخ در غلظت ۸۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر پس از ۳۶ ساعت باعث ۱۰۰ درصد مرگ و میر روی این شته می‌شود.

امینی و همکاران (۱۳۹۶)، اثر عصاره آبی گیاهان رزماری، اسطوخودوس، زیره سیاه، نعنای فلفلی، گلپر، سیر، پیاز و خزرهره را علیه شته خال‌دار بید *Tuberolachnus salignus* در شرایط آزمایشگاهی بررسی کرده و نتایج حاکی از تأثیر معنی‌دار و قابل توجه عصاره‌های مذکور روی این آفت بوده است.

با توجه به اثرات مضر باقی‌مانده حشره‌کش‌های شیمیایی بر دشمنان طبیعی آفات محصولات کشاورزی، محیط زیست و سلامتی انسان، استفاده از ترکیبات گیاهی از جمله عصاره‌ها به میزان زیادی از آلودگی محیط زیست جلوگیری می‌کند. بنابراین، انجام تحقیقات برای دسترسی به ترکیبات کم‌خطر جهت کنترل آفات مختلف از جمله شته توتون اجتناب‌ناپذیر است. لذا این تحقیق با هدف بررسی اثر سمیت عصاره برگ و ساقه گیاه گزنه *U. dioica* در کنترل شته توتون *M. nicotianae* انجام شد.

مواد و روش‌ها

پرورش شته توتون

شته توتون *M. nicotianae* از مزرعه تحقیقاتی توتون واقع در مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش استان مازندران واقع در کیلومتر ۱۵ جاده بهشهر به گرگان در تابستان سال ۱۳۹۹ جمع‌آوری و سپس با استفاده از کتاب کلید شناسایی شته‌های ایران (رضوانی، ۱۳۸۰) شناسایی شدند و روی گیاهچه‌های جوان توتون در گلخانه پرورش داده شدند. بدین منظور، بذر توتون (رقم بارلی ۲۱) ابتدا در سینی‌های نشاء یونولیتی به روش خزانه شناور کاشته شد و سپس نشاهای ۴-۵ برگی به گلدان‌های پلاستیکی یک کیلوگرمی حاوی خاک سبک منتقل شدند. گلدان‌ها هر دو روز یک‌بار آبیاری شدند. گلدان‌های حاوی گیاهچه‌های توتون در قفس‌های توری‌دار گلخانه‌ای با ابعاد $80 \times 120 \times 80$ سانتی‌متر و در شرایط دمای 25 ± 2 درجه سلسیوس و رطوبت نسبی 70 ± 5 و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری گردید. برای به‌دست آوردن حشرات کامل هم‌سن شته برای انجام آزمایشات زیست‌سنجی، تعدادی از حشرات کامل ماده بی‌بال از گلدان‌های آلوده با قلم‌مو برداشته شدند و روی گیاهان سالم (فاقد آلودگی به شته) انتقال یافته و به آن‌ها اجازه داده شد که به مدت یک روز (۲۴ ساعت) پوره‌زایی داشته باشند. پس از ۲۴ ساعت، حشرات کامل شته حذف گردید و به پوره‌های هم‌سن اجازه داده شد تا در شرایط یکسان رشد کنند و به مرحله بلوغ برسند. پس از ۷-۸ روز، پوره‌ها به حشرات کامل تبدیل شده و آزمایشات زیست‌سنجی روی حشرات کامل ۳-۴ روزه انجام شد.

جمع‌آوری گیاهان و استخراج عصاره

برگ و ساقه‌های گیاه گزنه از رویشگاه‌های طبیعی در استان مازندران در اوایل تابستان سال ۱۳۹۹ جمع‌آوری شدند. نمونه‌های تهیه شده با آب مقطر شستشو داده شدند و در اتاق با دمای حدود ۲۷ تا ۳۰ درجه سلسیوس دور از تابش مستقیم نور خورشید و با تهویه مناسب خشک شده و سپس در کیسه‌های نایلونی تیره نگهداری شدند. برای عصاره‌گیری، گیاهان خشک شده توسط آسیاب برقی به پودری با ذرات کاملاً ریز تبدیل شدند. عصاره‌گیری به روش خیساندن با استفاده از آب مقطر انجام گرفت. برای تهیه عصاره آبی، یک گرم از پودر خشک گیاهان توزین و به ۲۰۰ میلی‌لیتر آب در حال جوش اضافه شد. پس از اینکه حجم آب به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسید، نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه و به دور از نور نگهداری شدند. عصاره آبی پس از سانتریفیوژ کردن محلول حاصل در ۱۰۰۰g به مدت ۱۴ دقیقه به‌دست آمد. سپس عصاره حاصل در آن با دمای ۴۰ درجه سلسیوس خشک شد و تا زمان مصرف در دمای ۱۸- درجه سلسیوس نگهداری گردید. برای تهیه غلظت‌های مورد نظر از عصاره از آب مقطر استریل استفاده شد.

آزمایشات زیست‌سنجی (Bioassay)

برای محاسبه غلظت کشنده ۵۰ درصد (LC50)، اثر ۵ غلظت از عصاره برگ و ساقه گیاه گزنه با دوزهای ۰/۵، ۱، ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌لیتر در لیتر روی شته توتون در چهار تکرار بررسی شد. به منظور بررسی سمیت تماسی عصاره برگ و ساقه گیاه گزنه روی حشرات کامل سه تا چهار روزه شته توتون، قطعاتی هم‌اندازه از برگ‌های توتون با استفاده از سمپلر به غلظت‌های مختلف عصاره برگ و ساقه گزنه آغشته و پس از خشک شدن، در سطح ژل آگار ۰/۷ درصد داخل پتری‌دیش‌هایی به قطر ۸ سانتی‌متر و عمق ۱ سانتی‌متر در شرایط آزمایشگاهی قرار گرفتند. سپس ۱۵ عدد حشره کامل بی‌بال شته توتون روی برگ درون هر پتری‌دیش قرار داده شدند. در تیمار شاهد از آب مقطر استفاده شد. آزمایشات زیست‌سنجی در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار آزمایش شدند.

واحدهای آزمایشی پس از طی مراحل ذکر شده به اتافک رشد (انکوباتور) با دمای 25 ± 1 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 60 ± 5 درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی منتقل گردید. تعداد حشرات مرده،

در دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از اعمال تیمار شمارش و ثبت گردید. حشراتی که قادر به حرکت و تکان دادن پاها و حفظ تعادل بدن نبودند به عنوان مرده در نظر گرفته شدند (حلوایی و همکاران، ۱۳۹۴).
مرگ و میر به صورت درصد حشرات کامل مرده به تعداد اولیه در هر تکرار محاسبه و برای درصد کنترل از فرمول ابوت (Abbot, 1925) استفاده شد.

$$M[\%] = [(t - c) \div (100 - c)] \times 100$$

M% = درصد مرگ و میر محاسبه شده، T = مرگ و میر در تیمار، C = مرگ و میر در شاهد

تجزیه و تحلیل آماری

از روش تجزیه پروبیت و نرم افزار POLO-PC برای تخمین LC50 استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌های به دست آمده به صورت طرح کامل تصادفی در چهار تکرار با استفاده از نرم افزار SAS (Ver.6.12) انجام شد و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

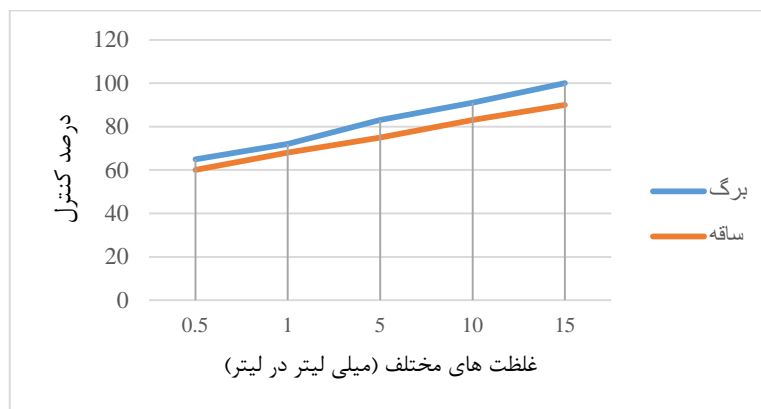
مقادیر غلظت کشنده ۵۰ درصد جمعیت (LC50) عصاره برگ و ساقه گیاه گزنه روی حشرات کامل شته *M. nicotianae* در جدول شماره ۱ ارائه شده است. با توجه به آن، غلظت کشنده ۵۰ درصد عصاره ساقه و برگ گیاه گزنه روی شته توتون به ترتیب (۵/۱۱ و ۳/۰۸ میلی لیتر در لیتر) به دست آمد، این امر نشان داد که عصاره برگ گزنه با داشتن LC50 کمتر (۳/۰۸ میلی لیتر در لیتر)، دارای اثر سمیت بیشتر نسبت به عصاره ساقه گزنه با LC50 (۵/۱۱ میلی لیتر در لیتر) روی شته توتون بوده است.

شکل ۱، نمودار روند کنترل شته توتون (*M. nicotianae*) در غلظت‌های مختلف عصاره برگ و ساقه گزنه را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود تأثیر کنترل کنندگی در عصاره هر دو اندام گیاهی، با افزایش غلظت عصاره‌ها روند صعودی به خود گرفته و میزان آن به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت. به طوری که در بالاترین غلظت (۱۵ میلی لیتر در لیتر)، عصاره برگ گزنه ۱۰۰ درصد و عصاره ساقه ۹۰ درصد کنترل کنندگی روی این آفت داشته‌اند.

جدول ۱- مقادیر غلظت کشنده ۵۰ درصد جمعیت (LC50) عصاره برگ و ساقه گیاه گزنه روی شته توتون

Table 1. Lethal concentration (LC50) of the population the nettle leaf and stem extract on tobacco aphid

LC50 (ml/L)	Intercept ± SE	Slope ± SE	P-value	X ₂ (df)	Plant organs	اندام گیاهی
3.08	0.79 ± 0.1	1.90 ± 0.2	0.87	4.17	Leaf	برگ
5.11	0.9 ± 0.1	1.71 ± 0.2	0.93	5.09	Stem	ساقه



شکل ۱- نمودار روند کنترل شته توتون در غلظت‌های مختلف عصاره برگ و ساقه گزنه

Fig. 1. Tobacco aphid control process in different concentrations of nettle leaf and stem extracts

نتایج تجزیه واریانس ارزیابی اثر سمیت عصاره برگ و ساقه گزنه *U. dioica* روی حشرات کامل شته توتون در دو زمان مختلف (۲۴ و ۴۸ ساعت) در جدول ۲ ارائه شده است. طبق نتایج تجزیه واریانس، اختلاف معنی داری در سمیت عصاره برگ و ساقه گزنه روی آفت شته توتون *M. nicotianae* در غلظت‌های مختلف پس از طی دو زمان مورد مطالعه مشاهده شد.

جدول ۲- تجزیه واریانس ارزیابی اثر سمیت عصاره ساقه و برگ گیاه گزنه روی حشرات کامل شته توتون

Table 2. Analysis of variance for lethal evaluation of Leaf & Stem of *U. dioica* on tobacco aphid adults

میانگین مربعات Mean Square		درجه آزادی df.	S.O.V	منابع تغییرات
۴۸ ساعت 48 h	۲۴ ساعت 24 h			
490.8**	436.71**	9	Treatment	تیمار
4.76	5.23	10	Error	خطا
2.89	3.12		CV (%)	ضریب تغییرات (%)

** : Significant at the 1% probability level.

** : معنی دار در سطح احتمال یک درصد

جدول ۳- مقایسه میانگین ارزیابی اثر سمیت عصاره ساقه و برگ گیاه گزنه روی حشرات کامل شته توتون

Table 3. Mean Comparison the lethal evaluation of Leaf & Stem of *U. dioica* on tobacco aphid adults.

درصد مرگ و میر Mortality (%)		Treatment		تیمار
۴۸ ساعت 48 h	۲۴ ساعت 24 h			
100 ^a	96 ^a	leaf	برگ	غلظت ۱۵ میلی لیتر در لیتر
90 ^{ab}	88 ^b	stem	ساقه	
84 ^b	80 ^{bc}	leaf	برگ	غلظت ۱۰ میلی لیتر در لیتر
80 ^{bc}	75 ^c	stem	ساقه	
78 ^c	73 ^{cd}	leaf	برگ	غلظت ۵ میلی لیتر در لیتر
75 ^{cd}	70 ^d	stem	ساقه	
70 ^{de}	64 ^{ef}	leaf	برگ	غلظت ۱ میلی لیتر در لیتر
66 ^e	61 ^f	stem	ساقه	
60 ^g	55 ^{gh}	leaf	برگ	غلظت ۰/۵ میلی لیتر در لیتر
51 ^h	49 ^j	stem	ساقه	

میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه هستند، در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی دار ندارند.

Averages with similar letters do not differ significantly at the level of one percent probability

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین میزان درصد کنترل پس از گذشت ۴۸ ساعت به ترتیب در تیمار عصاره برگ گزنه با غلظت ۱۵ میلی لیتر در لیتر با ۱۰۰ درصد و کمترین آن در تیمار عصاره ساقه گزنه با غلظت ۰/۵ میلی لیتر در لیتر پس از گذشت ۲۴ ساعت با ۴۹ درصد مشاهده شد. همچنین مشخص گردید که میزان درصد کنترل هر یک از عصاره‌های مورد استفاده با افزایش غلظت و گذشت زمان افزایش یافت (جدول ۳).

در رابطه با تأثیر عصاره‌های برگ و ساقه گیاه گزنه روی آفت شته توتون، با توجه به بررسی منابع این اولین گزارش روی این حشره می‌باشد. البته گزارش‌هایی از برخی پژوهشگران وجود دارد که حاکی از تأثیر عصاره برگ و ساقه گیاه گزنه روی برخی آفات دیگر بوده که در رشد و نمو و مراحل زیستی آن‌ها ایجاد اختلال نموده و بر تلفات آن‌ها مؤثر بوده‌اند.

باباولیلو و همکاران (۱۳۹۴)، اثر حشره‌کشی عصاره برگ و ساقه گیاه گزنه را روی شته معمولی گندم *Schizaphis graminum* به روش زیست‌سنجی در شرایط آزمایشگاهی مورد مطالعه قرار دادند. نتایج تحقیق آن‌ها نشان داد که عصاره هر دو اندام گیاهی برگ و ساقه گزنه روی کنترل شته معمولی گندم تأثیر دارد. غلظت ۱۲ میلی لیتر در لیتر عصاره برگ و ساقه این گیاه به ترتیب ۸۲ و ۹۰ درصد اثر کشندگی روی جمعیت شته معمولی گندم نشان داد.

غلظت کشنده ۲۶ درصد (LC26) عصاره برگ و ساقه گیاه گزنه روی شته معمولی گندم به ترتیب ۸۹/۲ و ۷۷/۳ میلی‌لیتر در لیتر به دست آمد که اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند، که این امر با نتایج حاصل از این تحقیق کنونی تا حدودی مغایرت داشت.

بابولیلو و همکاران (۱۳۹۵)، در بررسی کنترل شته معمولی گندم *Schizaphis graminum* با استفاده از عصاره ساقه و برگ گیاه خرزهره بیان نمودند که عصاره هر دو اندام گیاهی برگ و ساقه خرزهره برای کنترل شته معمولی گندم اختلاف معنی‌داری با هم نداشته و می‌توان از آن‌ها برای کنترل شته معمولی گندم استفاده کرد، به طوری که غلظت ۱۲ میلی‌لیتر در لیتر عصاره برگ و ساقه این گیاه به ترتیب ۸۲ و ۹۰ درصد اثر کشندگی روی جمعیت شته معمولی گندم نشان داد.

اثرات عصاره آبی گزنه *Urtica urens* L. روی خصوصیات بیولوژیکی و پارامترهای جمعیت شته سبز هلو *Myzus persicae* و شکارگر آن *Macrolophus pygmaeus* در گیاه بادمجان مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که کاربرد عصاره این گیاه به طور قابل توجهی موجب کاهش باروری می‌شود، اما تأثیر چندانی در میزان کاهش نرخ ذاتی افزایش جمعیت *M. persicae* نداشته است (Gaspari et al., 2007).

میزان غلظت لازم برای کشتن ۵۰ درصد (LC50) از حشراتی که در معرض ترکیبات گیاهی قرار می‌گیرند، به عوامل مختلف از جمله گونه آفت، گونه گیاه میزبان و ترکیبات موجود در آن‌ها، میزان حساسیت حشره، مرحله رشدی مختلف حشره، غلظت به کار رفته، روش انجام آزمایش، مدت زمان مصرف و عوامل متعدد دیگر ارتباط دارد (ایزدی، ۱۳۹۴). حلویایی و همکاران (۱۳۹۴)، اثر سمیت تماسی عصاره برگ و ساقه گیاه گزنه را روی شته برگ برنج *Rhopalosiphum padi* L. در شرایط آزمایشگاهی بررسی نمودند. نتایج تحقیق آن‌ها نشان داد که می‌توان از عصاره برگ و ساقه گزنه برای کنترل شته برگ برنج استفاده کرد، به طوری که غلظت ۱۲ میلی‌لیتر در لیتر عصاره برگ و ساقه این گیاه به ترتیب ۹۰ و ۸۶ درصد اثر کشندگی روی جمعیت شته برگ برنج نشان داد. همچنین آن‌ها، غلظت کشنده ۵۰ درصد عصاره برگ و ساقه را به ترتیب ۱۱/۴ و ۸۴/۴ میلی‌لیتر بر لیتر گزارش نمودند که بیشتر از LC50 عصاره برگ و ساقه گزنه محاسبه شده در تحقیق کنونی روی آفت شته توتون بود که علت این اختلاف احتمالاً مربوط به تفاوت در نوع آفت، نوع روش کار و شرایط مورد بررسی بوده است.

نتایج این تحقیق کنونی نشان داد که درصد کشندگی عصاره برگ گزنه (۱۰۰٪ کشندگی) بیشتر از عصاره ساقه این گیاه (۹۰٪ کشندگی) بود که این امر می‌تواند به دلیل تفاوت در مقدار درصد ترکیبات ثانویه موجود در آن‌ها باشد، زیرا میزان آن‌ها در برگ گیاه گزنه بیشتر از ساقه می‌باشد که این امر با نتایج حاصل از تحقیق مرادی و امینی (۱۳۹۶) مطابقت داشت. همچنین، با توجه به این که هر چه مقدار LC50 کمتر باشد، اثر کشندگی (سمیت) بیشتر می‌شود، در نتیجه در تحقیق کنونی مشخص شد که عصاره برگ گزنه با (LC50 = 3/08 mL/L) سمیت بیشتری نسبت به عصاره ساقه گزنه با (LC50 = 5/11 mL/L) داشته است.

از آنجایی که شته توتون *M. nicotianae* باعث ایجاد خسارت فراوان شده و کشاورزان برای کنترل آن به طور مکرر از آفت‌کش‌های شیمیایی استفاده می‌کنند، استفاده مکرر از آفت‌کش‌ها منجر به بی‌ثباتی در اکوسیستم و افزایش مقاومت به آفت‌کش‌ها در آفات شده است. بنابراین، لزوم جایگزینی مناسب برای آفت‌کش‌های مرسوم ضروری به نظر می‌رسد. به طور کلی، گیاهان منبعی غنی از مواد طبیعی هستند که می‌توانند برای توسعه روش‌های ایمن محیطی در جهت کنترل آفات مورد استفاده قرار گیرند (ایزدی، ۱۳۹۴). آفت‌کش‌های گیاهی به دلیل اینکه آلودگی زیست‌محیطی کمتری ایجاد می‌کنند و در بیشتر موارد سمیت کمتری برای انسان و حشرات مفید و دشمنان طبیعی آفات دارند، به عنوان جایگزینی مناسب برای آفت‌کش‌های سنتز شده در نظر گرفته می‌شوند. در دهه‌های گذشته تعداد زیادی از گیاهان با خاصیت حشره‌کشی شناخته شده‌اند که فقط ترکیبات کمی تجاری شده‌اند. از آنجا که بررسی تأثیر عصاره‌های گیاهی روی حشرات یکی از رویکردهای استفاده شده برای جستجوی حشره‌کش‌های گیاهی جدید می‌باشد،

بنابراین شناخت ارتباط بین ساختار فعال و عملکرد ترکیبات گیاهی برای تهیه یک برنامه فراگیر و گسترده امری ضروری به نظر می‌رسد (James et al., 2015).

سپاس‌گزاری

بدین وسیله از مدیریت محترم و همکاران مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش به دلیل همکاری در انجام این تحقیق سپاس‌گزاری می‌شود.

References

منابع

- اسدی، ر. و زکی‌زاده، ف. ۱۳۹۱. مبارزه بیولوژیک با آفات مکنده (شته‌ها و شپشک‌ها). اولین همایش ملی کشاورزی در شرایط محیطی دشوار. رامهرمز. ایران.
- امینی، ع.، امیری سیرازی، ا.، دهنوی، ص. و رضایی رحیمی، س. ۱۳۹۶. بررسی اثر عصاره‌های گیاهی با استفاده از آزمون زیست‌سنجی علیه شته خال‌دار بید (*Tuberolachnus salignus*). دومین کنفرانس ملی دستاوردهای نوین در زراعت و اصلاح نباتات، تهران، ایران.
- ایزدی، م. ۱۳۹۴. بررسی اثر کشندگی عصاره دو گیاه (شاتره و حنا) بر روی شته سیاه باقلا *Aphis fabae* (Scopoli) اولین کنفرانس بین‌المللی علوم و مهندسی، دبئی، امارات.
- باباولیلو، م.، شاهرخی، ش.، خدابنده، ح. ا. و نورافکن، ح. ۱۳۹۴. بررسی اثر کشندگی عصاره ساقه و برگ گیاه گزنه روی شته معمولی گندم (*Schizaphis graminum*). کنفرانس ملی کشاورزی پایدار، محیط زیست و توسعه روستایی.
- باباولیلو، م.، شاهرخی، ش.، خدابنده، ح. ا. و نورافکن، ح. ۱۳۹۵. بررسی امکان کنترل شته معمولی گندم (*Schizaphis graminum*) با استفاده از عصاره ساقه و برگ گیاه خرزهره. ماه‌نامه شابک (شبکه اطلاعات کنفرانس‌های کشور) ۳(۳): ۲۹-۳۴.
- پهلوان یلی، م. و محمدی انایی، م. ۱۳۹۶. بررسی اثر حشره‌کشی عصاره دانه زیتون تلخ و پوست لیموترش روی شته مومی کلم (*Brevicoryne brassicae* L.) و شته سبز گندم (*Schizaphis graminum* Rondani). نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی) ۳۱(۳): ۵۰۴-۴۹۶.
- حلوایی، م.، شاهرخی خانقاه، ش.، خدابنده، ح. ا. و باباولیلو، م. ۱۳۹۴. بررسی اثر تماسی عصاره برگ و ساقه گیاه گزنه روی شته برگ برنج *Rhopalosiphum padi* L. اولین همایش ملی یافته‌های نوین در پژوهش‌های کشاورزی و منابع طبیعی، میانه، ایران.
- رستم‌کلایی مطلق، ا. و گودرزین، ن. ۱۳۸۱. بررسی عکس‌العمل وارپته‌های مختلف توتون نسبت به شته توتون (*Myzus nicotianae*). کارنامه پژوهشی مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش، شرکت دخانیات ایران.
- رضوانی، ع. ۱۳۸۱. کلید شناسایی شته‌های ایران. انتشارات سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی. چاپ اول. ۳۱۶ صفحه.
- زمانی، پ. ۱۳۸۹. زراعت و عمل‌آوری توتون. انتشارات شرکت دخانیات ایران. ۱۶۰ صفحه.
- زرگری، ع. ۱۳۷۵. گیاهان دارویی. جلد دوم. انتشارات دانشگاه تهران. ۹۸۰ صفحه.
- سالاری، ا.، احمدی، ک. و زمانی ده یعقوبی، ر. ۱۳۹۰. تأثیر عصاره اتانولی دانه گیاه زیتون تلخ بر دو گونه شته. فصل‌نامه داروهای گیاهی ۲(۴): ۲۲۸-۲۲۳.

- شخصی زارع، ف.، لونی، س.، مرادی، ف. و عزیز پور، ل. ۱۳۹۴. اثرات دورکنندگی عصاره اتانولی گیاهان خارشتر (*Camelorum Alhagi*) و گزنه (*Urtica dioica* L.) بر شپشه آرد (*Tribolium castaneum*). فصلنامه تحقیقات حشره‌شناسی کشاورزی ۷(۴): ۳۱۷-۳۲۵.
- صالحی امیری، س. ۱۳۹۳. اثرات زیستی عصاره‌های آقطی، گزنه، تمشک و سرخس عقابی روی کنه تارتن دو نقطه‌ای (*Tetranychus urticae*). پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته حشره‌شناسی کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری.
- مرادی، پ. و امینی، ک. ۱۳۹۶. استخراج و شناسایی عصاره اندام‌های مختلف گیاه گزنه دویا (دوپایه *Urtica dioica* L.) و بررسی اثرات ضدباکتریایی و ضدقارچی آن. مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران ۲۷(۱۵۱): ۷۴-۸۵.
- نامدار، ح. ر. ۱۳۹۱. بررسی اثر حشره‌کشی عصاره گیاهان آقطی و گزنه روی شپشه آرد و شپشه برنج. پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته حشره‌شناسی کشاورزی. دانشگاه آزاد واحد اراک.
- Abbot, W.S. 1925.** A method of comparing the effectiveness of an insecticides. *Journal of Economic Entomology* 18: 265-267.
- Blackman, R.L. 1987.** Morphological discrimination of a tobacco-feeding from *Myzus persicae*, and a key to new world *Myzus* (Nectarosiphon) species: *Bulletin of Entomological Research* 77: 713- 730.
- Blackman, R.L. and Wastop, V.F. 2000.** Aphids on the world's crop, an identification and information guide. (2nd ed.) John Wiley and Sons, Ltd., Chichester, England, 466p.
- Bozsik, A. 1996.** Studies on aphicidal efficiency of different stinging nettle extracts. *Anz. Schadlingskde., Pflanzenschutz, Umweltschutz* 69: 21-22
- Clements, K.M. Sorenson, C.E., Wiegman, B.M. and Roe, M. R. 2000.** Insecticide resistance in the *Myzus persicae* complex (Homoptera: Aphididae) with emphasis on tobacco pest management. *Reviews in Toxicology* 3: 1-23.
- James, D.G., Lauby, G., Seymour, L. and Buckley, K.D. 2015.** Beneficial insects associated with stinging nettle, *Urtica dioica* Linnaeus, in central Washington state. *The Pan- Pacific Entomologist* 91(1): 1-19.
- Gaspari, M., Laykouressis, D., Perdikis, D. and Polissiou, M. 2007.** Nettle extracts effects on the aphid *Myzus persicae* and its natural enemy, the predator *Macrolophus pygmaeus*. *Journal of Applied Entomology* 131(9): 652- 657.
- Masukwedza, R., Mazarura, U., Chinwada, P. and Dimbi, S. 2013.** The Biology of the Red and Green Morphs of the tobacco aphid, *Myzus persicae Nicotianae* (Blackman) on Flue- cured Tobacco. *Asian Journal of Agricultural and Rural Development* 3(4): 205-214.
- Zammali, O. 2017.** Evaluation of Biochemical compositions of *Urtica dioica* L. extracts grown in Tunisia. *Incredible, Factsheet* 20177, 8: 12-18.

**Study the toxicity effect of *Urtica dioica* stem and leaf extract on tobacco aphid
*Myzus nicotianae***

M. Shazdeh Ahmadi*

Received: 26 Aug., 2020

Accepted: 20 Dec., 2020

ABSTRACT

Tobacco aphid (*Myzus nicotianae*) is one of the most important pests of tobacco and reduces the quality and quantity the tobacco product, directly and indirectly. Today, chemical insecticides are used to control pests. Due to the fact that plant extracts have a short shelf life in the environment and have low toxicity to humans, mammals and other living organisms, they are a good alternative to the side effects of chemical insecticides. In this study, the insecticidal properties of nettle *Urtica dioica* leaf and stem extracts on tobacco aphids were investigated. The experiments were performed at a temperature of $25 \pm 5^\circ \text{C}$, a relative humidity of $60 \pm 5\%$ and a photoperiod of 16L: 8D. After extracting the aqueous extract of nettle by soaking method, for bioassay experiments, the 15 number of adults tobacco aphids were placed on filter paper and the lethal effect of mortality concentrations up to one percent in four replications on tobacco aphids were investigated. The lethal effect of these two extracts at 5 different concentrations (0.5, 1, 5, 10 and 15 mL/L) in four replications on the percentage of tobacco aphid mortality was investigated. The 50% lethal concentration (LC50) was calculated using the Probit program. The results showed that nettle leaf extract with (LC50 = 3.08 mL / L) showed more toxicity than nettle stem extract with (LC50 = 5.11 mL /L). The application of nettle leaf extract with a concentration of 15 mL / L after 48 hours caused 100% mortality on tobacco aphids, which is significantly higher than nettle stem extract (with 90% mortality). Overall, the results of this study showed that the extracts of both plant organs, especially nettle leaf extract, have good power to control tobacco aphids.

Keywords: Extract, Insecticide effect, Tobacco aphid, *Urtica dioica*, Biometrics

1. Researcher, Department of Plant Pathology, Tirtash Research and Education Center, Behshahr, Iran.
Corresponding author: Noshinshazdeahmadi@yahoo.com