مقاله تحقیقی

بررسی خاصیت حشره کشی جلبک کارا

حمیده احمدیان یزدی [۱،*]، محمود ذکایی [۲]، آذرنوش جعفری [۳]

دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مشهد، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی

*مسئول مکاتبات: آدرس الکترونیکی: MZokaei@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۱/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۴/۲/۲۰

فصلنامه علمی پژوهشی دانش زیستی ایران
جلد ۱۰- شماره ۲- تابستان ۱۳۹۴

چکیده

در تحقیق حاضر علاوه بر شناسایی گونه های جنس *Chara* L. از این جلبک به عنوان عامل کنترل بیولوژیک در از بین بردن حشرات *Tribolium castaneum* و *Drosophila melanogaster* استفاده شده است. نمونه برداری در اردیبهشت و خرداد ماه سال ۱۳۹۲ از مناطق مختلف مشهد وحومه صورت گرفت. شش جمعیت متعلق به سه گونه از جنس *Chara* جمع آوری شد. جهت شناسایی گونه از کلید شناسایی پرسکات استفاده شد. در ادامه برای بررسی خاصیت حشره کشی گونه های *C. vulgaris*، *C. contraria* و *C. fragilis* عصاره الکلی و آبی و پودر خشک این جلبک ها به کار رفت. در روش اول عصاره های الکلی و آبی با غلظت های ۶ mg/ml و ۴ و ۲ از عصاره های الکلی و آبی تهیه گردید. سپس مقدار یک میلی لیتر به محیط کشت حشره داخل ارلن های حاوی نمونه اضافه شد. در روش دوم بر روی هر کدام از محیط های کشت مگس سرکه و شپشک آرد مقادیر۰/۶و۰/۴و۰/۲ گرم از پودر خشک هر کدام از گونه ها پاشیده شد. در ادامه به هر ارلن ۱۰ حشره بالغ انتقال یافت. یکی از ارلن ها به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. در هر تیمار سه ارلن و درون هر ارلن ۱۰ حشره قرار داده شد. ارلن ها به مدت یک هفته درون انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتی گراد قرارگرفت و هر سه گونه شناسایی شده در بالاترین غلظت و وزن استفاده شده دارای خاصیت حشره کشی بوده، بیشترین خاصیت حشره کشی در روش عصاره الکی و تعداد مرگ و میر حشرات با مقایسه ارلن شاهد شمارش شد. هر سه گونه شناسایی شده در بالاترین غلظت و وزن خشک استفاده شده دارای خاصیت حشره کشی بود. گونه *C. vulgaris* در عصاره الکلی در مقایسه با عصاره آبی و پودر خشک خاصیت حشره کشی بیشتری نسبت به دوگونه *C. fragilis* و *C. contraria* نشان داد. همچنین گونه *C. fragilis* نسبت به *C. contraria* خاصیت حشره کشی بیشتری داشت. میانگین مرگ و میر حشرات در عصاره آبی و پودر خشک یکسان بود و در کل تعداد مرگ و میر در مگس سرکه نسبت به شپشک آرد بیشتر بود. بنابر این با توجه به نتایج به دست آمده می توان از جلبک کارا به عنوان یک عامل کنترل بیولوژیک در از بین بردن حشرات استفاده کرد.

کلید واژه ها: جلبک کارا، حومه مشهد، خاصیت حشره کشی، کنترل بیولوژیک

مقدمه

در این تحقیق به شناسایی گونه‌های جلبک کارا موجود در منطقه و بررسی خاصیت حشره کشی هر کدام از گونه های شناسایی شده به عنوان یک عامل کنترل بیولوژیک بر روی مگس سرکه و شپشک آرد پرداخته شده است. عوامل کنترل بیولوژیک یکی از عوامل سازگار با محیط زیست به شمار رفته، لذا روشی مناسب از جنبه اقتصادی، به ویژه درکنترل حشرات و آفات به شمار می-روند. بطور کلی حشرات مهم‌ترین گروه از موجوداتی هستند که در برنامه های کنترل بیولوژیک به عنوان هدف مطرح بوده‌اند. یکی از عوامل کنترل بیولوژیک، فرآورده های طبیعی است، مانند فرآورده هایی که از گیاهان یا میکروارگانیسم ها به دست می‌آیند (۴). استفاده از کنترل بیولوژیک می تواند به طور غیرمستقیم به نفع محیط زیست و حیات وحش باشد. کنترل بیولوژیک آفات ممکن است برای پایین آوردن جمعیت آفات مزارع یا جنگل ها و یا برای تعدیل ناهماهنگی ها به وجود آمده در اثر ورود یک عامل جدید به یک محیط طبیعی صورت گیرد. گاهی تاثیر حاد حشره کش ها به صورت مایع، پودر یا گاز بر روی مزارع کشاورزی، آبراه ها و بالاخره زنجیره مواد غذایی جبران ناپذیر است، به طوری که تجمع این مواد در بدن مهره داران باعث بروز اختلالات هورمونی و گاهی مرگ خواهد شد. با توجه به این که برخی از متابولیت های ثانویه در جلبک ها شناسایی شده که دارای قدرت حشره کشی بوده و از سوی دیگر کنترل بیولوژیک حشرات و آفات مزارع بسیار مناسب وکم خطرتر ازاستفاده سموم شیمیایی است، لذا شناسایی این گونه از جلبک ها بسیار با اهمیت وکاربردی است. در واقع این نوع از کنترل بیولوژیکی نوعی دفاع در برابر گیاهخواران است که در میان جلبک های شیرین و سیانو باکتری ها وجود دارد (۵). هدف از کنترل بیولوژیک پسماندهای شیمیایی کمتر و حفظ محیط زیست است. از این رو بررسی تحقیقات کنترل بیولوژیک حائز اهمیت است (۶). گزارش هایی مبنی بر این که جلبک *Chara* در زمین‌های کشاورزی جهت دفع حشرات و آفات استفاده می شود، وجود دارد (۱). جلبک کارا که متعلق به رده Charophyceae، راسته Charales و خانواده Characeae است که گروه متنوع و پیچیده ای از جلبک ها را تشکیل می دهند و در تمام قاره ها به جز قطب جنوب پراکنده شده اند (۷،۸). این گروه از جلبک ها منشاء گیاهان خشکی می‌باشند و قدیمی ترین فسیل به دست آمده از آنها مربوط به اواخر سیلورین است (۹،۱۰). از اهمیت اکولوژیک این جلبک می توان به مواردی از جمله استفاده به عنوان حشره‌کش طبیعی اشاره کرد (۱). ترکیبات استخراج شده از گونه های *C. baltica*, *C. hispid* و *C. globularis* شامل

4-methylthio-1,2-dithiolane

5-methylthio-1,2,3-trithane

2-(methylthio) -1,3-dithiol propane دارای خاصیت حشره کشی می باشند (۱۱).

مواد و روش ها

برای انتخاب مکان جمع آوری نمونه ها سعی بر این بوده است که مناطق آبی مختلفی از حومه مشهد را تحت پوشش قرار دهیم تا نمونه‌های متنوع‌تری را جمع‌آوری کنیم. نمونه برداری در اردیبهشت و خرداد ماه سال ۱۳۹۲ صورت گرفت. شش جمعیت متعلق به سه گونه از جنس کارا از شش مکان در حومه شهر مشهد با مشخصاتی که در جدول ۱ آورده شده، جمع آوری شد. جهت شناسایی نمونه های جمع آوری شده از کلید شناسایی پرسکات و مقالات معتبر مرتبط استفاده شد (۱۰). پس از شناسایی نمونه های جلبکی مطالعات مربوط به خاصیت حشره کشی سه گونه *C. vulgaris, C. contraria, C. fragilis* از جنس *Chara*. L به عنوان عامل کنترل بیولوژیک بر روی حشرات مگس سرکه و شپشک آرد مورد آزمایش قرار گرفتند.

جلبک ها در سایه و در دمای ۱۶-۱۴ درجه سانتی گراد خشک شد. بعد از پودر کردن جلبک ها با استفاده از دستگاه سوکسله عمل عصاره گیری از آنها انجام شد. جهت تهیه عصاره آبی حدود ۲۰ گرم پودر گونه های *C. vulgaris, C. contraria, C. fragilis* در داخل کیسه کاغذ صافی قرار داده شد و عصاره گیری با آب مقطر انجام گردید. از محلول به دست آمده توسط دستگاه خلاء

حذف حلال شد و حذف کامل حلال تا مرحله خشک شدن عصاره در انکوباتور با دمای ۴۵ درجه سانتی گراد صورت گرفت. جهت تهیه عصاره الکلی عصاره گیری با محلول اتانول۹۶٪ انجام گرفت (۱۱). جهت استاندارد کردن روش، وزن خشک عصاره ها تعیین گردید. به منظور تاثیر بررسی عصاره ها بر روی حشرات انتخابی، غلظت های ۶ mg/ml و ۴ و ۲ از عصاره های آبی و الکلی گونه های *C. vulgaris, C. contraria, C. fragilis* به کمک آب مقطر تهیه شد. در آزمایش مگس سرکه از هر غلظت تعیین شده مقدار ۱ میلی لیتر به محیط کشت حشره در داخل ارلن ها اضافه شد. سپس تعداد ۱۰ عدد حشره بالغ مگس سرکه به درون ارلن انتقال یافت. یکی از ارلن ها به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. در هر تیمار سه ارلن و درون هر ارلن ۱۰ حشره تکرار شد. ارلن ها به مدت یک هفته درون انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتی گراد نگه داری شد و میزان مرگ و میر حشرات در هر روز شمارش و ثبت شد. در آزمایش شپشک آرد از هر غلظت یک میلی لیتر به درون محیط کشت حشره یعنی کدو تزریق و ۱۰ حشره بالغ به داخل ارلن ها انتقال یافت و مدت یک هفته درون انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتی گراد قرار گرفت. میزان مرگ و میر حشرات در هر روز شمارش و ثبت شد. محیط کشت مورد استفاده برای مگس سرکه محیط کشت اختصاصی و برای شپشک آرد از کدو استفاده شد. درون هر کدام از ارلن ها میزان هفت گرم میوه کدو قرار داده شد. در روش استفاده از پودر خشک جلبک ها بر روی هر کدام از محیط های کشت مگس سرکه و شپشک آرد مقادیر ۶/ ۰و ۰/۴ و ۰/۲ گرم از هر کدام از نمونه های *C. vulgaris, C. Contraria* و *C. fragilis* پاشیده شد. سپس به هر محیط کشت ۱۰ حشره بالغ انتقال یافت. یکی از ارلن ها به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. در هر تیمار سه ارلن و درون هر ارلن ۱۰ حشره تکرار شد. ارلن ها به مدت یک هفته درون انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتی گراد قرار داده شدند، یکی از ارلن ها به عنوان شاهد در نظر گرفته شد و میزان مرگ و میر حشرات در هر روز شمارش و ثبت گردید.

نتایج

شناسایی گونه های جنس *Chara* L. با استفاده از منابع مورد استفاده صورت گرفت. سه گونه *C. vulgaris, C. contraria, C. fragilis* شناسایی شد. گونه *C. vulgaris* از رادکان و لایین، *C. contraria* از مناطق مایان سفلی و بلندر، *C. fragilis* از مناطق کلات و شریف آباد توسط نگارنده گزارش شد. شایان ذکر است که *C. contraria* برای اولین بار از استان خراسان رضوی توسط نگارنده گزارش گردید.

کلید شناسایی گونه های *Chara* L.

۱*a*. پوست دو لایه ۲

۲*a*. پوست سه لایه *C. fragilis*

۲*a*. طول اووگونیوم کمتر از ۵۷۵ *µm* *C. contraria*

۲*b*. طول اووگونیوم بیشتر از ۵۷۵ *µm* *C. vulgaris*

در ذیل نتایج حاصل از آزمایش عصاره های الکلی و آبی و پودر خشک گونه های *C. vulgaris*, *C. contraria* و *C. fragilis* روی مگس سرکه و شپشک آرد، پس از یک هفته شمارش تعداد مرگ و میر حشرات، در حداکثر غلظت (۶ mg/ml) در عصاره ها و بیشترین وزن خشک (۰/۶ گرم) استفاده شده در پودر خشک آورده شده است. به علت این که تعداد مرگ ومیر در دو غلظت ۴mg/ml و۲ در عصاره ها و در دو وزن ۰/۴و ۰/۲ گرم پودر خشک استفاده شده، قابل ملاحظه نبود.

بنابراین، در بررسی نتایج مورد ارزیابی قرار نگرفتند. به منظور بررسی اثر هر کدام از عامل‌های نوع گونه، عصاره وحشره از روش تحلیل واریانس سه عاملی استفاده شد و نتایج در جدول ۲ گزارش شده است.

مقادیر احتمال کمتر از ۰/۰۵ نشان می‌دهند که نوع گونه، نوع عصاره و نوع حشره بر تعداد مرگ و میر حشرات موثر هستند. به این معنا که از نظری آماری تعداد مرگ و میر حشرات در گونه‌های مختلف یکسان نمی‌باشد. همچنین نوع عصاره مورد استفاده بر تعداد مرگ و میر حشرات موثر است، بعلاوه نرخ مرگ و میر بر حسب نوع حشره نیز متفاوت می‌باشد. معنی‌داری اثر گونه- عصاره نشان می‌دهد که در یک گونه خاص اثر عصاره بر نرخ مرگ

و میر حشرات از اثر آن در سطح دیگر گونه متفاوت است. معنی‌داری اثر گونه- حشره نشان می‌دهد که در یک گونه خاص نرخ مرگ و میر مگس سرکه ازنرخ مرگ و میر مگس سرکه درگونه‌ای دیگرمتفاوت است. این وضعیت برای شپشک آرد نیز برقرار است. معنی‌داری اثرعصاره- حشره نشان می‌دهد که دریک عصاره خاص نرخ مرگ و میر مگس سرکه از نرخ مرگ و میر مگس سرکه درعصاره دیگرمتفاوت است. این وضعیت برای شپشک آرد نیز برقرار است. در زیر به تفصیل این اختلافات مورد بررسی قرار می گیرند. بعلاوه اثر متقابل سه عامل نیز معنادار می‌باشد.

نتیجه آزمون دانکن با حروف بر روی هر یک از ستون-های نمودار ۱ لحاظ شده است. بنابراین نتیجه می‌شود که گونه *C. vulgaris* نسبت به دو گونه *C. fragilis* و *C. contraria* خاصیت حشره کشی بیشتری داشته است. همچنین در گونه *C. fragilis* نسبت به *C. contraria* تعداد مرگ و میر بیشتری گزارش شده است.

نتیجه آزمون دانکن با حروف بر روی هر یک از ستون های نمودار ۲) لحاظ شده است. مشاهده می‌گردد که تعداد مرگ و میر حشرات در عصاره الکلی در مقایسه با عصاره آبی و پودر خشک بیشتر می‌باشد. اما سطح مرگ و میر حشرات در عصاره آبی و پودر خشک یکسان است. نتیجه آزمون دانکن با حروف بر روی هر یک از ستون‌های نمودار ۳ لحاظ شده است. مشاهده می گردد که در کل تعداد مرگ و میر در مگس سرکه نسبت به شپشک آرد بیشتر می‌باشد. بعلاوه در گروه شاهد هیچ مرگ و میری در حشرات مشاهده نشد.

بحث

عوامل زیادی از قبیل بیولوژی و مرفولوژی حشرات در میزان حساسیت آنها به عوامل کنترل بیولوژیک تاثیرگذار است. برای مثال رفتار حشرات، تراکم جمعیت، سن تغذیه، مسایل ژنتیکی و واکنش آنها در مقابل عوامل شیمیایی، میکروبی و مکانیکی بسیار با اهمیت است. یکی از موارد مهم کنترل بیولوژیکی حشرات، میزان تنش آنها در برابر عامل کنترل خواهد بود. یعنی چنانچه حشره ها در برابر عامل کنترل مورد نظر حساسیت داشته باشند و یا شرایط محیطی تنش حشره را در مقابل عامل کنترل افزایش دهد، کنترل بهتری صورت می گیرد. تغذیه حشره نیز در میزان حساسیت آن در کنترل بیولوژیک تاثیرگذار است. عامل مهم دیگری که می توان به آن اشاره کرد سن حشره است (۳). عصاره های گیاهی جایگزین مناسبی برای ترکیبات شیمیایی هستند که کمترین خطر را برای انسان و محیط زیست دارند (۱۳). این ترکیبات می توانند به عنوان جایگزین مناسب در کشورهای در حال توسعه مصرف شوند (۱۴). عصاره ها در الکل به مقدار زیاد و در آب به مقدار کمی حل می شوند، آنها مخلوطی از استرها، آلدهیدها، الکل ها، ستن ها و ترپن ها می باشند. اگرچه، ترکیبات شیمیایی اسانس ها ممکن است متفاوت باشند اما در برخی خواص فیزیکی مشترک می باشند. همچنین اسانس ها از بوی مشخصی برخوردارند (۱۵). عصاره های استخراج شده از گیاهان دارای خواص دور کنندگی، ضد تغذیه ای، عقیم کنندگی و اثر سمیت روی حشرات می باشند. این ترکیبات می توانند از طریق تماسی، خوراکی، گوارشی یا تنفسی بر روی حشرات تاثیر بگذارند. محتویات اصلی آنها مونوترپن ها می باشند که به دلیل خاصیت حشره کشی در صنایع مورد استفاده قرار می گیرند (۱۶). محل اثر آنها بر روی حشرات تاثیر بر روی سیستم عصبی آنها به ویژه تاثیر بر روی اکتوپامین (یک پیام رسان عصبی) است (۱۷). به ویژه فعالیت بازدارندگی آنزیم استیل کولین استراز به عنوان محل اصلی تاثیر به اثبات رسیده است (۱۸). با توجه به نتایج به دست آمده از نظر آماری تعداد مرگ و میر حشرات در گونه‌های مختلف یکسان نبود. همچنین نوع عصاره مورد استفاده بر تعداد مرگ و میر حشرات موثر بود، بعلاوه نرخ مرگ و میر بر حسب نوع حشره نیز متفاوت بود.

طبق نتایج به دست آمده گونه *C. vulgaris* نسبت به دو گونه *C. fragilis* و *C. contraria* خاصیت حشره کشی بیشتری داشت.

در گونه *C. fragilis* نسبت به *C .contraria* تعداد مرگ و میر بیشتری گزارش شد. تعداد مرگ و میر حشرات در عصاره الکلی در مقایسه با عصاره آبی و پودر خشک بیشتر بود. این نتیجه با نظریه Regnault-Roger در ۱۹۹۷ مبنی بر این که عصاره ها در الکل بیشتر و به

میزان کمی در آب حل می شوند، کاملا هم خوانی دارد (۱۵). اما سطح مرگ و میر حشرات در عصاره آبی و پودر خشک یکسان بود که در کل تعداد مرگ و میر در مگس سرکه نسبت به شپشک آرد بیشتر بود. بعلاوه در گروه کنترل شاهد هیچ مرگ و میری در حشرات وجود نداشت. خاصیت حشره کشی پودر خشک گونه *C. vulgaris* نسبت به دو گونه دیگر بیشتر بود. همچنین پودر خشک گونه *C. contraria* موجب مرگ هیچ حشره‌ای نشد. تعداد مرگ و میر مگس سرکه در عصاره الکلی نسبت به تعداد مرگ و میر مگس سرکه در عصاره آبی و پودر خشک به مراتب بیشتر بود، در حالی که تعداد مرگ و میر مگس سرکه در عصاره آبی و پودر خشک به طور محسوسی متفاوت از هم نبود. تعداد مرگ و میر شپشک آرد در عصاره الکلی نسبت به تعداد مرگ و میر شپشک آرد در عصاره آبی و پودر خشک بیشتر بود. در حالی که تعداد مرگ و میر شپشک آرد در عصاره آبی و پودر خشک به طور محسوسی متفاوت از هم نبود. بنابراین، طبق نتایج به دست آمده در این پژوهش جلبک *Chara* دارای خاصیت حشره کشی است و به نظر می رسد نتایج به دست آمده در این تحقیق با نتایج مطالعاتی که Kleiven در ۱۹۹۱ از مطالعه بر روی گونه‌های *C. baltica*, *C. hispida* و *C. globularis* به دست آورد، هم خوانی دارد. با توجه به اشتراک بسیاری از ترکیبات در گونه های پراکنده در سراسر دنیا انتظار می رود که ترکیبات استخراج شده از *C. hispid* ,*baltica* *C.* و *C. globularis* که خاصیت حشره کشی آنها به اثبات رسیده در گونه های مختلف *Chara* از جمله *C. vulgaris*, *C. contraria* و *C. fragilis* مشترک باشند (۹). بنابر این با توجه به مطالب فوق می توان از جلبک کارا در از بین بردن حشرات وآفات به عنوان حشره کش استفاده کرد.

تقدیر و تشکر

از معاونت پژوهشی واحد مشهد قدردانی می گردد.

منابع مورد استفاده

۱. کیان مهر، ه. ۱۳۸۴. بیولوژی جلبک ها .انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. مشهد- ایران. ص ۳۳۴.

۲. حاج زاده، م، ا. درخشنده، ح. اسماعیل زاده، م. قربانی، ا. ۱۳۸۳. بررسی اثرات ضد دردی و ضد التهابی عصاره های آبی و الکلی گیاه خرفه در موش های بزرگ و کوچک. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی سمنان، جلد ۵، ص

۳. خشاوه، ع. ۱۳۸۷. قارچ ها و کنترل بیولوژیک آفات. مجله علمی – تخصصی کشاورزی زیتون، شماره ۸۹.

4. Collier, T., van Steenwyk, R., 2004. A critical evaluation of augmentative biological control. Biological Control 31: 245-256.
5. Colborn, T., Dumanoski, D., Peterson Myers, J., 1997. Our Stolen Future: Are We Threatening our Fertility, Intelligence, and Survival? A Scientific Detective Story. Penguin Books U.S.A. Inc., New York. Pp.316.
6. Cook, R., Baker, K.F., 1983) The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens, American Phytopathological Society, St Paul, Minnesota, 539.
7. Wood, R. D., Imahori, K., 1965. A revision of the Characeae. Monograph of the Characeae. Pp.904.
8. Martin, G., Torn, K., Blindow, I., Schubert, H., Munsterhjelm R., Henricson C., 2003. Introduction to charophytes. In: H. Schubert, I. Blindow (eds.) Charophytes of the Baltic Sea. The Baltic Marine Biologists Publications No. 19, Gantner Verlag, Ruggell, pp.3-14.
9. Croft, W. N., 1952. A new *Trochiliscus* (Charophyta) from the Downtonian of Podolia. Bulletin of the British Museum (Natural History) Department of Geology 1: 189-220.
10. Lee, R. E., 2008. Phycology, Cambridge University Press. 4th edition, pp.561.
11. Kleiven, S., 1991. An analysis of allelopathic effects of Chara on phytoplankton development. Acta Univ Ups., Comprehensive Summaries of Uppsala Diss. from the Fac. of Sci. 313, 20 pp. Uppsala.
12. Prescott, G. W., 1976. How to know the freshwater algae. Third edition. Wm. C. Brown company publishers. Pp. 293.
13. Rajendran, S., 2001. Alternatives tomethyl bromide as fumigants for stored food commodities. The Royal Society of Chemistry: 249-253.
14. Navarro, S., Finkelman, S., Donahaya, E., Dias, R., Rindnner, M., 2001. Meeting of the IOBC WPRS/ OILB SROP working group integrated

protection of stored products (eds. A. Cornel and S. Navarro), Lisbon Portugal, Pp. 31.
15. Regnault-Roger, C., 1997. The potential of botanical essential oils for insect pest control. Integrated Pest Management Reviews 2: 25-34.
16. Lee, S., Lee, B., Choi, W., Park, B., Kim, J., Campbell, B. 2001.
17. Isman, M. B., 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulate world. Annual Reviw of Entomology 51: 45-66.
18. Rajendran, S., Sriranjini, V., 2008. Plant products as fumigants for stored product insect control. Journal of Stored Products Research 44: 126-135.