

اثر دورکنندگی اسانس نانوکپسوله شده گیاه درمنه (*Artemisia sieberi* Besser) روی لارو شب پره پشت الماسی (*Plutella xylostella* L.)

مریم نگهبان^۱، سعید محرمی پور^{۲*}، مژگان زندی^۳ و سیدعلی هاشمی^۴

۱- دانش آموخته دکتری، گروه حشره‌شناسی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۲- نویسنده مسئول، دانشیار، گروه حشره‌شناسی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

پست الکترونیک: moharami@modares.ac.ir

۳- استادیار، گروه بیومتریال، پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران، تهران

۴- استاد، گروه سیستم‌های دارورسانی نوین، پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران، تهران

تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۰

تاریخ اصلاح نهایی: بهمن ۱۳۹۰

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۰

چکیده

امروزه در مدیریت تلفیقی آفات استفاده از روشهای نوین فرمولاسیون مانند نانوکپسول کردن سموم به دلیل کارایی بیشتر و مطلوب‌تر و همچنین کاهش مضرات و عوارض سوء ناشی از کاربرد مستقیم آنها مورد توجه قرار گرفته‌است. در این پژوهش اثر دورکنندگی ناشی از نانوکپسول حاوی اسانس گیاه درمنه (*Artemisia sieberi* Besser) در مقایسه با اسانس طبیعی درمنه روی شب پره پشت الماسی (*Plutella xylostella* L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae) مورد مقایسه و ارزیابی قرار گرفت. کلیه آزمایش‌ها در شرایط کنترل شده دمای 27 ± 1 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 65 ± 5 درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انجام شد. در این پژوهش اثر دورکنندگی اسانس نانوکپسوله شده و اسانس طبیعی در غلظت‌های ۰/۹ تا ۲/۳ پی‌پی‌ام مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که اثر دورکنندگی اسانس نانوکپسوله در آغشته شدن به غذای حشره به‌طور معنی‌داری بسیار بالاتر از اثر تدریجی آن بود. به‌علاوه اینکه درصد دورکنندگی اسانس طبیعی در غلظت ۱/۹ پی‌پی‌ام در مدت ۶ ساعت به بالاترین حد خود (۸۰٪) رسید، اما پس از ۲۴ ساعت به ۶۲٪ کاهش یافت. درحالی‌که درصد دورکنندگی اسانس نانوکپسوله با گذشت زمان افزایش یافت و پس از ۲۴ ساعت به ۱۰۰٪ رسید. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که اسانس نانوکپسوله با رهایش کنترل شده ترکیب‌های مؤثره اثرات دورکنندگی طولانی مدت را بر جای می‌گذارد. به‌طوری که فناوری نانوکپسوله کردن اسانس‌ها می‌تواند نقش عمده و بسزایی در دورکنندگی آفات داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: درمنه (*Artemisia sieberi* Besser)، شب پره پشت الماسی (*Plutella xylostella* L.)، اسانس گیاهی، دورکنندگی، نانوکپسول.

مقدمه

غیرهدف، آلودگی محیط‌زیست، در خطر قرار گرفتن سلامت انسان و بروز مقاومت در آفات شده‌است (Lee *et al.*, 2004). شب پره پشت الماسی یکی از مهمترین و

استفاده مکرر از سموم شیمیایی طی دهه‌های متوالی باعث کاهش کارایی دشمنان طبیعی، اثر روی موجودات

می‌باشد (Digilio *et al.*, 2008). فرموله کردن یک ترکیب در واقع پیدا کردن ترکیب مناسبی از اجزای سازنده با نسبت معین جهت دستیابی به محصول نهایی در یک فرمول است. استفاده موفقیت‌آمیز از سموم کشاورزی جهت کنترل آفات تا حد زیادی به نحوه فرمولاسیون سموم و شرایط عملکرد سم بستگی دارد تا تأثیر بیشتر و بهتری داشته باشد. به‌منظور افزایش اثربخشی سموم به‌ویژه سموم گیاهی و تأثیر آنها در حداقل غلظت و با توجه به محدود بودن منابع گیاهی، فرمولاسیون‌های جدید سموم بر مبنای بهره‌وری از علم نانو مورد توجه جدی قرار گرفته‌اند. از مهمترین فرمولاسیون‌های نانو می‌توان به نانوکپسول‌ها اشاره نمود. نانوکپسول‌ها پس از نانو ذرات دومین عنصر پایه در فناوری نانو محسوب می‌شوند. نانوکپسول‌ها انواع متنوعی دارند، نانوکپسول‌های پلیمری از جمله ترکیب‌هایی هستند که به دنبال فرایند «پلیمریزاسیون همزمان» در اندازه‌ها و شکل‌های گوناگون تولید می‌شوند. انتخاب پلیمرها بستگی به فاکتورهای فیزیکی، شیمیایی، خواص بیولوژیکی اسانس، نحوه اثر، نحوه کاربرد و نوع محصول دارد تا باعث ایجاد توانایی رهایش کنترل شده و حفظ مواد مؤثره، افزایش تأثیر و فعالیت بیولوژیکی طولانی‌تر آن شود (Lai *et al.*, 2006). تاکنون مطالعه‌ای روی خواص اسانس نانوکپسوله درمنه انجام نشده‌است، بنابراین در این پژوهش اثر دورکنندگی اسانس طبیعی و اسانس نانوکپسوله شده گیاه درمنه (*Artemisia sieberi*) به روش تدخینی و غذای آلوده روی شب‌پره پشت‌الماسی (*Plutella xylostella* L.) مورد مطالعه قرار می‌گیرد.

مخرب‌ترین آفات گیاهان خانواده چلیپانیان است که بالاترین مقاومت را به آفت‌کش‌های شیمیایی نشان داده‌است (Reddy *et al.*, 2004; Yi *et al.*, 2007). برای کنترل جمعیت این آفت در سرتاسر جهان از حشره‌کش‌های شیمیایی مرسوم و غیرمرسوم از قبیل *Bacillus thuringiensis var. kurstaki* استفاده می‌شود که موجب بروز مقاومت در شب‌پره پشت‌الماسی شده‌اند و منجر به شکست در مبارزه با این آفت به‌خصوص در محصولات گیاهی این خانواده در سراسر جهان گردیده‌اند (Eltayeb *et al.*, 2010). دانشمندان امروزه فعالیت‌های خود را برای یافتن منابع جدیدی از حشره‌کش‌ها متمرکز نموده‌اند که علاوه بر سازگاری با محیط‌زیست، دارای اثرات کنترلی مؤثری باشند. گیاهان به‌ویژه اسانس آنها به علت دارا بودن خواص حشره‌کشی و همچنین توانمندی برخی از آنها در بازدارندگی تغذیه، خاصیت دورکنندگی و تغییر مسیر رشد طبیعی آفات توانسته‌اند به‌عنوان منابع جدید کنترل‌کننده آفات مورد توجه قرار گیرند (Duke, 1990; Keita *et al.*, 2000; Papachristos & Stamopoulos, 2002). تاکنون حدود ۲۰۰۰ گونه گیاهی یافت شده که خاصیت حشره‌کشی از خود نشان داده‌اند (Odeyemi *et al.*, 2008). گیاه درمنه از جمله گیاهانی می‌باشد که سمیت قابل‌توجهی روی آفات ایجاد می‌نماید (Negahban *et al.*, 2007; Negahban *et al.*, 2004). سمیت تنفسی، ضدتغذیه‌ای و دورکنندگی اسانس درمنه قبلاً اثبات شده‌است (نگهبان و محرمی‌پور، ۱۳۸۵؛ Negahban *et al.*, 2006a; Negahban *et al.*, 2007). اما دوام کم، تبخیر، تجزیه در معرض نور خورشید و کم بودن مواد مؤثر موجود در گیاهان از محدودیت‌های توسعه انواع سموم گیاهی

مواد و روشها

جمع‌آوری گیاه مورد مطالعه

در اوایل فصل پاییز ۱۳۸۹ در زمان گلدهی، گیاه درمنه از اطراف دریاچه قم جمع‌آوری گردید. اندام‌های هوایی آن که شامل جوانه، برگ و گل است در محل کاملاً تاریک خشک گردیده، داخل پاکت‌های کاغذی در فریزر و در دمای ۲۴- درجه سلسیوس نگهداری شد.

تهیه اسانس

در هر نوبت اسانس‌گیری ۵۰ گرم پودر گیاهی همراه با ۶۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر با استفاده از دستگاه اسانس‌گیر شیشه‌ای Cleavenger در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس به روش تقطیر با آب اسانس‌گیری شد. زمان اسانس‌گیری برای هر نمونه ۴ ساعت بود. اسانس‌های جمع‌آوری شده با کمک سولفات سدیم آبگیری شده و تا زمان استفاده در ظروف شیشه‌ای به حجم ۲ میلی‌لیتر با پوشش آلومینیومی در داخل یخچال در شرایط دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد (Negahban et al., 2007).

تهیه فرمولاسیون نانوکپسول اسانس گیاهی

برای تهیه فرمولاسیون نانوکپسول‌های حاوی اسانس گیاه درمنه از روش پلیمریزاسیون همزمان (In situ polymerization technique) به روش امولسیون‌روغن در آب (O/W) استفاده شد (Prasetya, 2010). اسانس گیاه درمنه به‌عنوان هسته نانوکپسول، اوره و فرمالدئید ۳۷٪ به‌عنوان پیش‌پلیمرهای (U-F) دیواره نانوکپسول انتخاب شدند. در دمای ۲۵-۲۰ درجه سلسیوس، اوره و فرمالدئید ۳۷٪ به نسبت وزنی مشخص (۱:۲) به همراه ۳۰۰ میلی‌لیتر آب یونیزه شده به‌منظور تهیه پیش‌پلیمر به راکتور مجهز به همزن مکانیکی منتقل گردید، بعد از حل

شدن اوره pH محیط به ۹-۸ و دما به ۶۰ تا ۶۵ درجه سلسیوس به مدت زمان حدود ۴۵ دقیقه افزایش یافت. بعد از این که پیش‌پلیمر اوره فرمالدئید (U-F) آماده شد دور همزن را بالا برده و مقدار ۱۰۰ میلی‌لیتر امولسی فایر (تویین ۸۰) ۳٪ به تدریج اضافه گردید و بعد ۱۵ گرم اسانس را به‌صورت قطره قطره اضافه نموده و بعد از گذشت ۲۰ تا ۳۰ دقیقه pH محلول را با اسیدسولفوریک ۱۰٪ به ۳ رسانده تا دیواره پلی‌اوره فرمالدئید ذرات اسانس را دربرگیرد. بعد از گذشت ۴ ساعت که واکنش انجام شد و شکل نانوکپسول‌های تشکیل شده در بهترین حالت خود حفظ شد سوسپانسیون حاوی نانوکپسول بعد از سرد شدن فیلتر شده و نانوکپسول‌ها در آخر فریزدرایر شدند. لازم به ذکر است که فرمولاسیون نانوکپسول حاوی اسانس درمنه با غلظت ۳/۷۵٪ ماده مؤثره تهیه شد.

بررسی مورفولوژی سطح نانو کپسول با میکروسکوپ الکترونی

به‌منظور مشاهده سطح و شکل‌شناسی دیواره نانوکپسول‌ها از دستگاه میکروسکوپ الکترون عبوری (TEM (Transmission Electron Microscope)، Philips, Model CM120) با ولتاژ ۱۲۰ کیلووات استفاده شد. به‌منظور آماده‌سازی نمونه، مقدار ۵ میلی‌لیتر از فرمولاسیون تهیه شده با ۲ برابر حجم آن با آب مقطر رقیق شد و در دستگاه اولتراسونیک به مدت ۱۵ دقیقه با توان ۴۰ وات گذاشته شد (شکل ۱).

پرورش حشرات

شب‌پره پشته‌الماسی *P. xylostella* در دمای 1 ± 27 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی $5 \pm 65\%$ ، دوره نوری

و در ظرف تیمار روی دیسک‌های برگی یک میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف نانوکپسول اسانس و یا اسانس طبیعی تهیه شده با توپین ۳٪ ریخته و به مدت ۱۰ دقیقه در زیر هود گذاشته تا خشک شده و بعد در ظرف تیمار قرار داده شد (شکل ۴).

ج) اثر دورکنندگی نانوکپسول (غذای آلوده به نانو کپسول در مقایسه با غذای آلوده با اسانس معمولی)
در این آزمایش در یک ظرف دیسک‌های برگی آلوده به غلظت‌های مختلف اسانس طبیعی و در ظرف دیگر دیسک‌های برگی آلوده به غلظت‌های مختلف اسانس نانوکپسوله قرار داده شد (شکل ۵).

لازم به ذکر است که در تمامی آزمایش‌ها ۲۰ عدد لارو سن سوم شب‌پره پشت‌الماسی (بعد از ۳ ساعت گرسنگی) در ظرف وسط به‌عنوان ظرف مبنا برای رهاسازی در نظر گرفته شد، سپس در ظروف در زمان آزمایش باز و با توری پوشانده شد. پس از ۱، ۳، ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت تعداد حشرات در هر ظرف شمارش و درصد دورکنندگی اسانس طبیعی و اسانس نانوکپسوله محاسبه شد (آزمایش‌ها در ۵ تکرار انجام شد).

روش محاسبه درصد دورکنندگی و تجزیه و تحلیل آماری
درصد دورکنندگی اسانس طبیعی و اسانس نانوکپسوله طبق فرمول زیر محاسبه شد (Liu et al., 2006).

$$\text{Repellent Index (RI)\%} = \frac{C - T}{G} \times 100$$

که در آن C تعداد حشرات در ظرف شاهد، T تعداد حشرات در ظرف تیمار و G کل حشرات مورد آزمایش می‌باشد. برای تشخیص خاصیت دورکنندگی اسانس یا

۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس در اتاقک رشد روی گیاه کلزا رقم Opera پرورش داده شد.

آزمایش زیست‌سنجی

بررسی اثر دورکنندگی اسانس نانوکپسوله و اسانس طبیعی روی شب‌پره پشت‌الماسی

براساس روش شاکرمی (۱۳۸۳) با اندکی تغییرات در دو سمت یک ظرف پلاستیکی (مکعبی شکل درپوش‌دار به حجم ۶۵ میلی‌لیتر) سوراخی تعبیه شد و هر سوراخ با کمک یک لوله پلاستیکی به قطر ۳ میلی‌متر و طول ۲ سانتی‌متر به دو ظرف پلاستیکی دیگر با همان حجم متصل گردید، به‌طوری که حرکت حشرات از ظرف میانی به ظروف جانبی از طریق لوله‌های رابط به سهولت امکان‌پذیر بود (شکل ۲). برای بررسی اثر دورکنندگی اسانس طبیعی و اسانس نانوکپسوله مراحل به‌صورت زیر انجام گردید.

الف) مطالعه اثر دورکنندگی اسانس نانوکپسوله و اسانس طبیعی (به روش تدخینی)

در ظرف شاهد روی کاغذ صافی یک میلی‌لیتر محلول آبی توپین (۸۰) ۳٪ ریخته شد. در ظرف تیمار روی کاغذ صافی یک میلی‌لیتر از غلظت‌های تهیه شده (زیر دوز کشنده) اسانس یا اسانس نانو کپسوله (۰/۹ تا ۲/۳ پی‌پی‌ام از ماده مؤثره) ریخته شد (شکل ۳).

ب) مطالعه اثر دورکنندگی اسانس نانوکپسوله و اسانس طبیعی (به روش غذای آلوده)

در این آزمایش در ظرف شاهد یک دیسک برگی ۴ سانتی‌متری از گیاه کلزا (همراه با ۱ میلی‌لیتر توپین ۳٪)

مطالعه اثر تدخینی اسانس طبیعی و اسانس نانوکپسوله در دورکنندگی لارو سن ۳ شب‌پره پشت‌الماسی

نتایج حاصل از آزمون t-student در شکل ۶ نشان می‌دهد که تأثیر اسانس طبیعی و اسانس نانوکپسوله در درمنه روی درصد دورکنندگی لارو شب‌پره پشت‌الماسی در غلظت‌های مختلف اختلاف معنی‌داری با یکدیگر دارند. به طوری که درصد دورکنندگی ناشی از اثر تدخینی اسانس طبیعی در لارو حشره در ساعات اولیه با مقدار کم شروع شده و در ساعت ششم به بیشترین حد خود می‌رسد و بعد با گذشت زمان از قدرت دورکنندگی آن کم می‌شود. درحالی‌که در آزمایش‌های بررسی دورکنندگی ناشی از اثر تدخینی اسانس نانوکپسوله مقدار رهایش اسانس در ساعات اولیه در غلظت‌های پایین (۰/۹ تا ۱/۵ پی‌پی‌ام) خاصیت دورکنندگی نداشته و با گذشت زمان مقدار دورکنندگی آن به دلیل رهایش تدریجی اسانس از نانوکپسوله بیشتر گردید. به‌علاوه اینکه در هر دو آزمایش مشاهده گردید که میزان دورکنندگی با افزایش غلظت بیشتر شده و زمان مؤثر در دورکنندگی حشرات توسط اسانس بعد از گذشت ۶ ساعت می‌باشد، درحالی‌که در اسانس نانوکپسوله مقدار زمان مؤثر در دورکنندگی حشره ۲۴ ساعت تعیین گردید.

مطالعه اثر غذای آغشته به اسانس طبیعی و اسانس نانوکپسوله در دورکنندگی لارو سن ۳ شب‌پره پشت‌الماسی

با توجه به نمودار شکل ۷ دورکنندگی لارو حشرات توسط اسانس در تمامی غلظت‌ها در ساعات اولیه شروع شده و در ساعت ششم به بیشترین حد خود

نانو کپسول، از روش Kogan و Goeden (۱۹۷۰) با تغییراتی بشرح زیر استفاده شد.

Indifferent: $MRI - 2SD < MRI < MRI + 2SD$

Repellent: $MRI < MRI \pm 2SD$

Attractant: $MRI > MRI - 2SD$

Standard deviation = SD

Maen repellent index = MRI

تمام آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۸ تیمار و در ۵ تکرار انجام شد. برای مقایسه اثر غلظت‌های مختلف در هر تیمار (اسانس طبیعی یا اسانس نانوکپسوله) بر شاخص دورکنندگی از آنالیز تجزیه واریانس یک طرفه One-Way ANOVA استفاده شد و در صورت معنی‌دار شدن، میانگین‌ها توسط آزمون توکی در سطح ۰/۰۵٪ مقایسه گردیدند. از آزمون t-student مستقل، برای مقایسه اثر دو تیمار (اسانس طبیعی و اسانس نانوکپسوله) استفاده شد. قبل از تجزیه و تحلیل آماری شاخص دورکنندگی با استفاده از رابطه $\text{Arcsine } \sqrt{\frac{x}{100}}$ نرمال شدند. تجزیه و تحلیل‌های آماری توسط برنامه SPSS 16 و رسم شکل‌ها توسط نرم‌افزار Excel 2007 انجام شد.

نتایج

بررسی مورفولوژی سطح نانوکپسول با میکروسکوپ الکترونی

تصویر میکروسکوپ الکترون عبوری (TEM) (شکل ۱) ساختار هسته و دیواره در نانوکپسول را نشان می‌دهد. سطح خارجی نانوکپسول‌ها صاف و یکنواخت است و ذرات نانوکپسول پلی‌اوره فرمالدهید به‌صورت زنجیر تشکیل شده‌است.

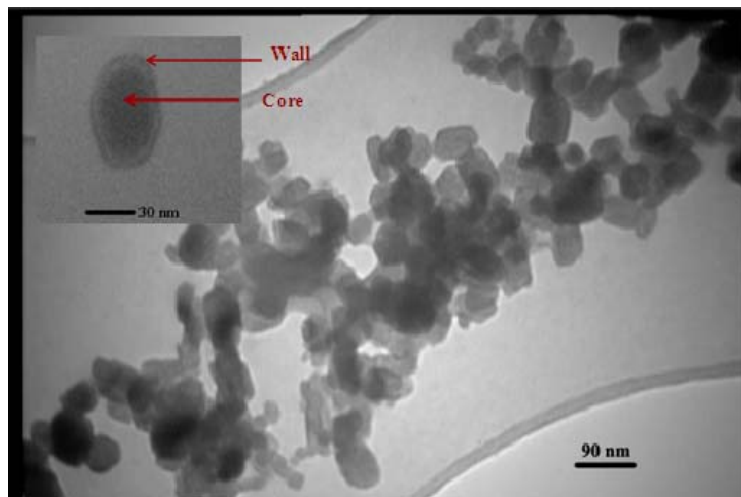
اسانس طبیعی دارای خاصیت جلب‌کنندگی بوده و اسانس طبیعی در ساعات اولیه دارای خاصیت دورکنندگی بالایی است، به طوری که در غلظت‌های پایین در ساعت ششم و در غلظت‌های بالا در ساعت سوم اسانس بیشترین خاصیت دورکنندگی را در لارو حشره دارد. سپس با گذشت زمان از خاصیت دورکنندگی اسانس طبیعی کم شده و در مقابل خاصیت دورکنندگی نانوکپسول در طی زمان بیشتر شده و حشرات تمایل دارند که از غذای آلوده به اسانس نانوکپسوله شده به سمت غذای آلوده به اسانس بروند. حتی در غلظت‌های بالاتر نیز در ساعات اولیه، اسانس نانوکپسوله خاصیت جلب‌کنندگی نسبت به غذای آلوده به اسانس طبیعی داشته درحالی‌که اسانس دارای درصد دورکنندگی ۸۲ و ۹۴ به ترتیب در ۱ ساعت و ۳ ساعت بعد از رهاسازی حشرات می‌باشد. درصد دورکنندگی در اسانس نانوکپسوله بعد از ۶ ساعت به ۴۶٪ و با گذشت زمان پس از ۲۴ ساعت به ۸۶٪ رسید، در مقابل اسانس طبیعی پس از ۲۴ ساعت دارای خاصیت جلب‌کنندگی در حشرات نسبت به اسانس نانوکپسوله بوده، زیرا رهایش مواد مؤثره آن سریع‌تر بوده و با گذشت زمان از تأثیر آن در دورکنندگی حشرات کم می‌شود، بعکس اسانس نانوکپسوله با رهایش تدریجی مؤثرتر واقع شده و با گذشت زمان درصد دورکنندگی آن افزایش می‌یابد.

می‌رسد، اما پس از آن بتدریج از خاصیت دورکنندگی اسانس کم می‌شود. در مقابل در اسانس نانوکپسوله دورکنندگی حشرات در تمامی غلظت‌ها با گذشت زمان بیشتر شده و در ۲۴ ساعت به بالاترین حد خود می‌رسد، به طوری که میزان آن به صورت معنی‌داری بیشتر از دورکنندگی حاصل از اسانس طبیعی می‌باشد. بنابراین نانوکپسول می‌تواند در طی ۲۴ ساعت خاصیت دورکنندگی اسانس را حفظ نموده، بنابراین می‌تواند مؤثرتر واقع شود. همچنین نانوکپسول می‌تواند در غلظت پایین (۰/۹ پی‌پی‌ام) بعد از ۲۴ ساعت حدود ۴۸٪ دورکنندگی داشته باشد، درحالی‌که اسانس بعد از ۲۴ ساعت تقریباً ۱۴٪ قدرت دورکنندگی داشته‌است که نشان می‌دهد نانوکپسول اسانس نسبت به اسانس طبیعی مؤثر واقع شده‌است. شکل ۸ نشان می‌دهد که درصد دورکنندگی ناشی از اثر غذای آغشته به نانوکپسول در مقایسه با دورکنندگی ناشی از اثر تدخینی آن بیشتر بوده‌است. به علاوه با وجود این که مقدار رهایش اسانس در نانوکپسول کمتر است، اما به طور کلی دورکنندگی بیشتر است. بنابراین می‌توان استنباط کرد که ابتدا حشره به سراغ غذا رفته و مواجه با غذای آغشته به نانوکپسول حاوی اسانس شده و بعد با گذشت زمان و رهایش تدریجی اسانس از غذای حاوی نانوکپسول دور می‌گردد.

مطالعه مقایسه‌ای اثرات غذای آغشته به اسانس طبیعی با اسانس نانوکپسوله شده بر دورکنندگی لارو

سن ۳ شب‌پره پشته‌الماسی

نتایج حاصل از تجزیه آماری شکل ۹ نشان می‌دهد که در ساعات اولیه اسانس نانوکپسوله در مقایسه با



شکل ۱- تصویر ساختار زنجیره‌ای نانوکپسول‌های پلی‌اوره فرمالدهید حاوی اسانس درمنه توسط میکروسکوپ الکترون عبوری (TEM, Philips, CM120)



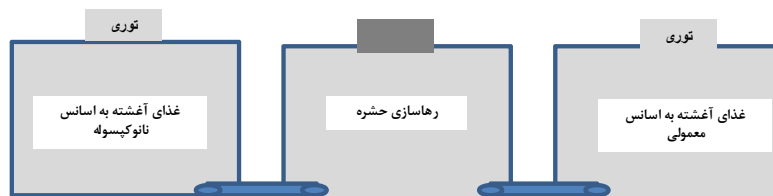
شکل ۲- شکل اصلی ظرف‌های آزمایش اثر دورکنندگی اسانس معمولی و اسانس نانوکپسوله (ظرف وسط محل رهاسازی حشرات با درب بسته و ظروف طرفینی مربوط به تیمار و شاهد که با توری پوشانده شده‌اند.) (قابل تهویه)



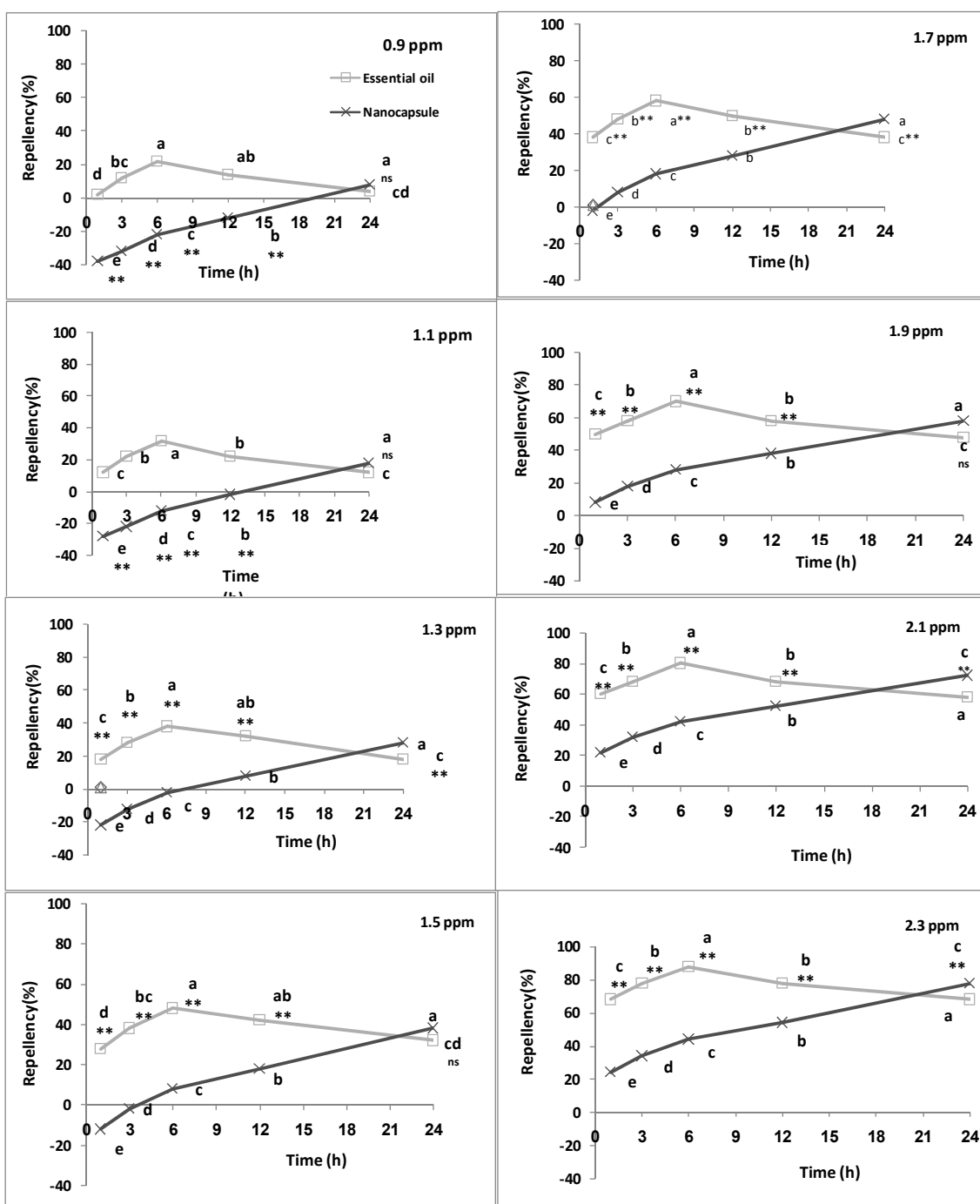
شکل ۳- مدل طراحی ظرف‌های آزمایش اثر دورکنندگی اسانس نانوکپسوله و اسانس معمولی (به روش تدخینی)



شکل ۴- مدل طراحی ظرف‌های آزمایش اثر دورکنندگی اسانس نانوکپسوله و اسانس معمولی (به روش غذای آلوده)



شکل ۵- مدل طراحی ظرف‌های آزمایش اثر دورکنندگی غذای آلوده به اسانس نانوکپسوله در مقایسه با غذای آلوده با اسانس معمولی

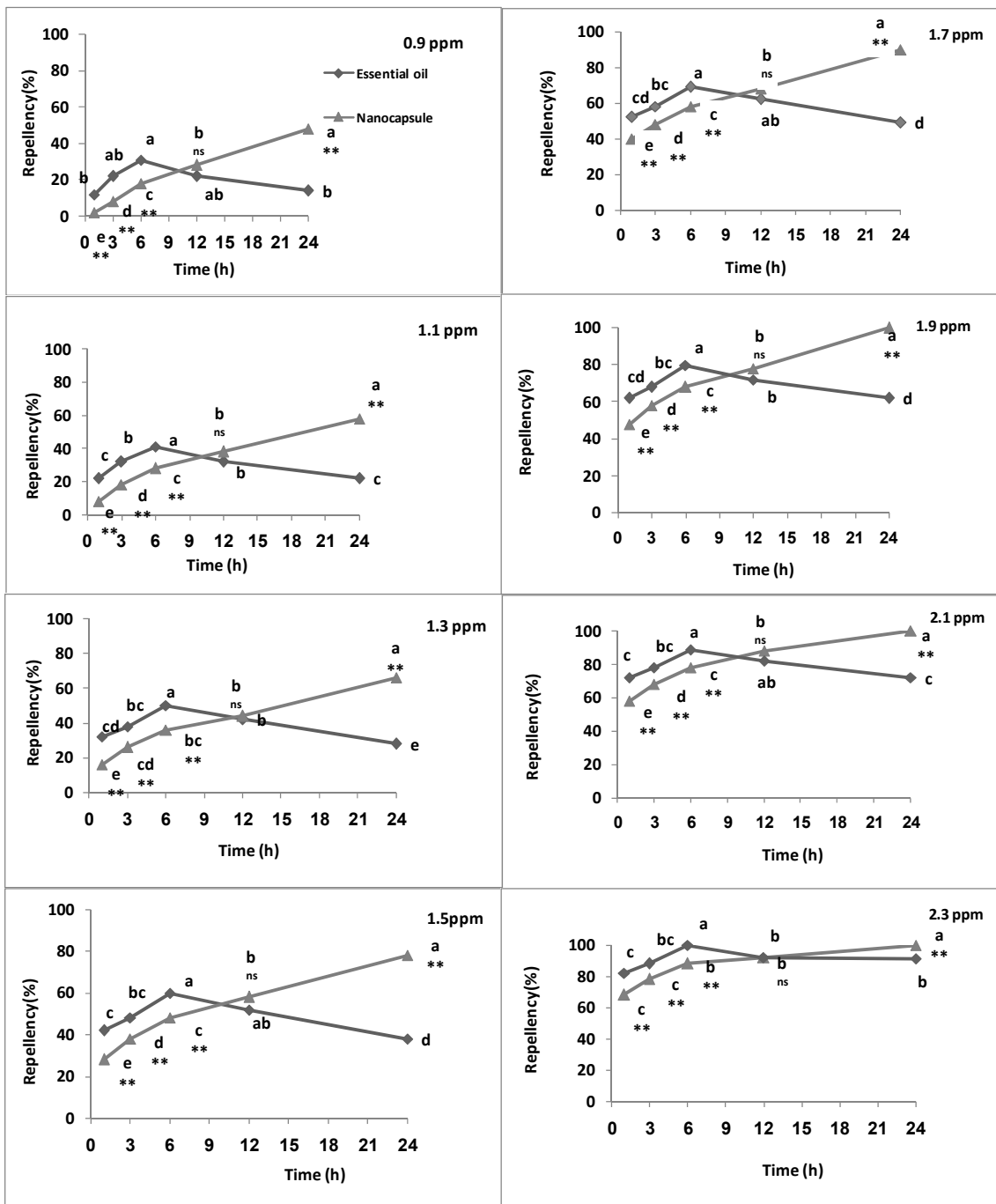


شکل ۶- اثر تدخینی اسانس طبیعی و اسانس نانوکپسوله در دورکنندگی لارو سن ۳ شب پره پشت الماسی در زمان‌ها و غلظت‌های

مختلف (مدل شکل ۳)

ns و **: به ترتیب بیانگر اختلاف غیر معنی دار و اختلاف معنی دار در سطح ۱٪ در آزمون t-student مستقل برای مقایسه اثر اسانس غیرنانو و اسانس نانوکپسوله در هر زمان

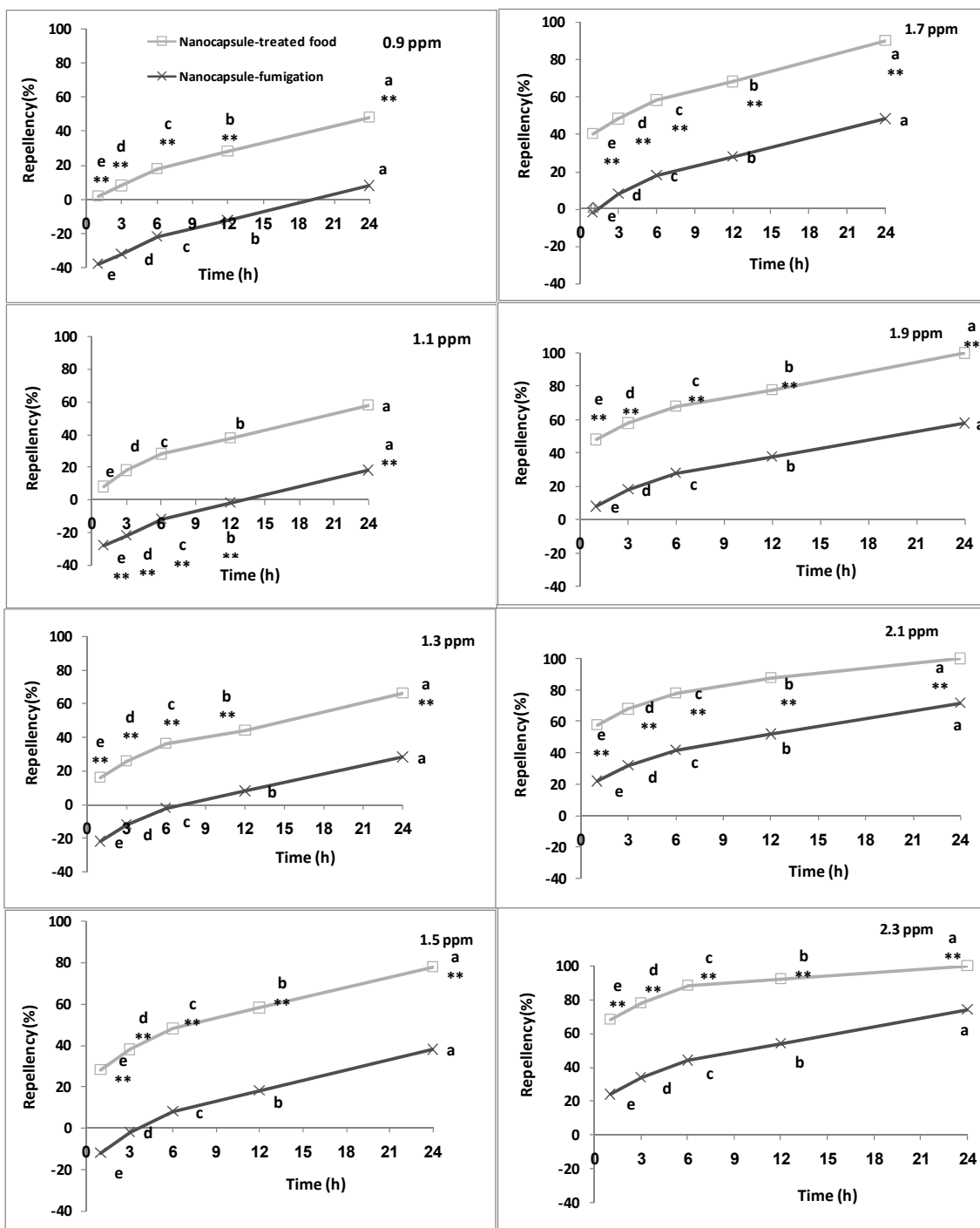
میانگین‌های با حروف غیرمشترک بیانگر وجود اختلاف معنی دار با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال ۵٪ می‌باشند.



شکل ۷- اثر غذای آغشته به اسانس طبیعی و اسانس نانوکپسوله در دورکنندگی لارو سن ۳ شب پره پشت‌الماسی در زمان‌ها و غلظت‌های مختلف (مدل شکل ۴)

ns و **: به ترتیب بیانگر اختلاف غیرمعنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطح ۰.۱٪ در آزمون t-student مستقل برای مقایسه اثر اسانس غیرنانو و اسانس نانوکپسوله در هر زمان

میانگین‌های با حروف غیرمشترک بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال ۰.۰۵ می‌باشند.



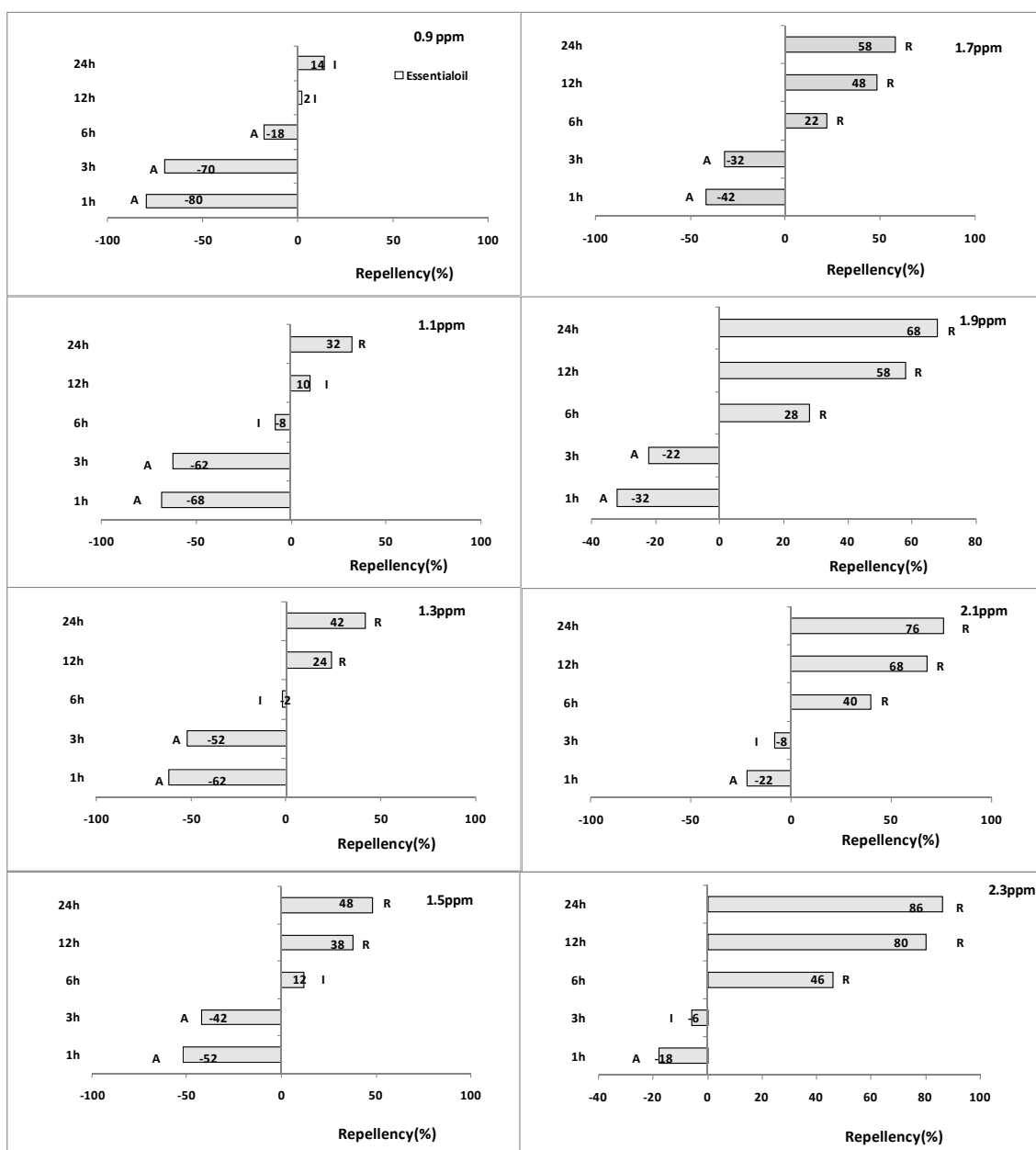
شکل ۸- اثر مقایسه تدخینی اسانس نانوکپسوله با اثر غذای آغشته به اسانس نانوکپسوله در دورکنندگی لارو سن ۳ شب پره

پشت‌الماسی در زمان‌ها و غلظت‌های مختلف (مقایسه مدل شکل‌های ۳ و ۴)

ns و **: به ترتیب بیانگر اختلاف غیرمعنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطح ۰.۱٪ در آزمون t-student مستقل برای مقایسه اثر اسانس غیرنانو و اسانس نانوکپسوله در

هر زمان

میانگین‌های با حروف غیرمشترک بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال ۰.۰۵٪ می‌باشند.



شکل ۹- اثر غذای آغشته به اسانس نانوکپسوله در مقایسه با اسانس غیرنانو روی دورکنندگی لارو سن ۳ شب پره پشت الماسی در زمان‌ها و غلظت‌های مختلف (مدل شکل ۵)

علامت اختصاری A بیانگر جلب‌کنندگی (Attractant)، علامت R بیانگر دورکنندگی (Repellent) و علامت I بیانگر بی‌اثر بودن است.

بحث

شده است؛ هرچند در این پژوهش اثر دورکنندگی اسانس درمنه و نانوکپسول آن روی شب پره پشت الماسی که یک آفت زراعی است انجام نشده است، اما بیشترین مطالعات انجام شده برای تعیین دورکنندگی اسانس‌ها در مورد آفات

به‌طور کلی اسانس‌ها دارای خاصیت دورکنندگی بالایی هستند و تاکنون آزمایش‌های مختلفی برای اثبات دورکنندگی اسانس‌ها در غلظت‌های مختلف انجام

(Negahban *et al.*, 2006b). در صورتی که اسانس طبیعی با اسانس نانوکپسوله مقایسه شود مشاهده خواهد شد که اثر جلب‌کنندگی نانوکپسول بیشتر بوده است. یکی از دلایل آن می‌تواند اثر دورکنندگی اسانس باشد که حشرات به سمت نانوکپسول‌ها جلب شوند. در ساعات اولیه اسانس نانوکپسوله اثر دورکنندگی ندارد و بعد از گذشت زمان که اثر غذای آغشته به اسانس در نانوکپسول‌ها و اثر تنفسی آن در اثر آزاد شدن تدریجی اسانس از نانوکپسول‌ها بیشتر می‌شود، حشره از غذاهای آلوده به نانوکپسول فرار کرده و چون گرسنه است مجبور شده به سمت غذای آلوده به اسانس که درصد بیشتر ماده مؤثره‌اش در ساعات اولیه آزاد شده و برای تغذیه حشره نیز قابل‌تحمل‌تر شده است (به دلیل این که به زیر دوز دورکنندگی رسیده است) برود و تغذیه کند. مسئله کم شدن خاصیت اثر دوام اسانس قبلاً ثابت شده است (نگهبان و محرمی‌پور، ۱۳۸۵؛ Negahban *et al.*, 2006a). البته اثر جلب‌کنندگی اوره فرمالدهید هم بی‌تأثیر نیست که برای اثبات این موضوع نیاز به آزمایش‌های بیشتری است. همچنین قدرت دورکنندگی در حشره هنگامی که در معرض تنفس (گاز متصاعد از مواد مؤثره فرار اسانس) و غذای آغشته به اسانس نانوکپسوله باشد بیشتر می‌شود. نتایج نشان داد که با گذشت زمان در غلظت‌های مختلف قدرت دورکنندگی در اسانس نانوکپسوله خاصیت تجمعی و افزایشی داشته، درحالی‌که در اسانس معمولی با گذشت زمان از خاصیت دورکنندگی اسانس معمولی رفته رفته کاسته شده است. از آنجا که در اسانس درمنه *A. sieberi* ترکیب‌های کامفور، کامفن، ۸،۱-سینئول، بتا-توجون و آلفا-پینن به ترتیب با ۵۴/۷، ۱۱/۷، ۹/۹، ۵/۶ و ۲/۵ درصد بیشترین حجم اسانس را به خود اختصاص داده‌اند (نگهبان و محرمی‌پور، ۱۳۸۵؛

انباری انجام شده است (نگهبان و محرمی‌پور، ۱۳۸۵؛ Zapatta & Smagghe, 2010؛ Sahaf *et al.*, 2008). اسانس گیاهان *Artemisia tridentata* Nutt. و *Artemisia aucheri* Boiss. روی آفات انباری دارای اثر دورکنندگی هستند (شاگرمی، ۱۳۸۳؛ Weaver *et al.*, 1995). به علاوه Wang و همکاران (۲۰۰۶) اثرات دورکنندگی غذای آلوده به اسانس *Artemisia vulgaris* L. را روی شپشه آرد بررسی کرده و بیشترین دورکنندگی را در غلظت ۰/۶ میکرولیتر بر میلی‌لیتر گزارش نمودند. آزمایش‌هایی که تاکنون انجام شده تنها به گزارش اثر دورکنندگی اسانس اکتفا کرده است، ولی در این پژوهش روند دورکنندگی اسانس در ساعات‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت. همچنین در آزمایش‌های متعددی که توسط بسیاری از پژوهشگران انجام شده است برای بررسی اثر دورکنندگی اسانس، غذای آغشته شده به اسانس در اختیار حشره قرار گرفته است، اما به‌طور کلی مطالعات کمی در مورد اثر تدخینی دورکنندگی اسانس انجام شده است. در این پژوهش برای مقایسه اثرات تدخینی و غذای آغشته به اسانس نانوکپسول شده و اسانس معمولی در دورکنندگی شب‌پره پشت‌الماسی از آزمایش‌های مختلف استفاده گردید و در هر دو این آزمایش‌ها واکنش رفتاری حشره در برابر اسانس مشابه بوده است. حداکثر دورکنندگی در ۶ ساعت مشاهده شد. در تمامی آزمایش‌ها اسانس ماده مؤثره خود را حداکثر در ۶ ساعت اول رها می‌کند و به همین دلیل خاصیت دورکنندگی آن تا ۶ ساعت روند صعودی داشته و پس از آن خاصیت دورکنندگی کاهش می‌یابد. در بررسی اثرات سمیت تنفسی اسانس درمنه روی شپشه آرد مشاهده شد که در غلظت ۳۷ میکرولیتر بر لیتر بیشترین مرگ و میر در ۶ ساعت است که می‌تواند با این موضوع مرتبط باشد

- Chrysomelidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 63(4): 1175-1180.
- Lai, F., Wissing, S.A., Muller, R.H. and Fodda, A.M., 2006. *Artemisia arborescens* L essential oil-loaded solid lipid nanoparticles for potential agricultural application: preparation and characterization. *American Association of Pharmaceutical Scientists Technology*, 7(1): E10-18.
 - Lee, B.H., Annis, P.C., Tumaalii, F. and Choi, W.S., 2004. Fumigant toxicity of essential oils from the Myrtaceae family and 1,8-cineole against 3 major stored-grain insects. *Journal of Stored Products Research*, 40(5): 553-564.
 - Liu, C.H., Mishra, A.K., Tan, R.X., Tang, C., Yang, H. and Shen, Y.F., 2006. Repellent and insecticidal activities of essential oils from *Artemisia princeps* and *Cinnamomum camphora* and their effect on seed germination of wheat and broad bean. *Bioresource technology*, 97(15): 1969-1973.
 - Negahban, M., Moharramipour, S. and Sefidkon, F., 2006a. Chemical composition and insecticidal activity of *Artemisia scoparia* essential oil against three coleopteran stored-product insects. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 9(4): 381-388.
 - Negahban, M., Moharramipour, S. and Sefidkon, F., 2006b. Insecticidal activity and chemical composition of *Artemisia sieberi* Besser oil from Karaj, Iran. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 9(1): 61-66.
 - Negahban, M., Moharramipour, S. and Sefidkon, F., 2007. Fumigant toxicity of essential oil from *Artemisia sieberi* Besser against three stored-product insects. *Journal of Stored Products Research*, 43(2): 123-128.
 - Negahban, M., Moharramipour, S. and Yousefelahe, M., 2004. Efficiency of essential oil from *Artemisia scoparia* Waldst et Kit. against *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Proceedings of the forth International Iran and Russian Conference of Agriculture and Natural Resources*. Shahrekord, Iran, 8-10 September: 261-266.
 - Odeyemi, O.O., Masika, P. and Afolayan, A.J., 2008. Insecticidal activities of essential oil from the leaves of *Mentha longifolia* L. subsp. *capensis* against *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae). *African Entomology*, 16(2): 220-225.
 - Papachristos, D.P. and Stamopoulos, D.C., 2002. Toxicity of vapors of three essential oils to the immature stages of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 38(4): 365-373.
 - Prasetya, R.A. and Hasokowati, W., 2010. Mechanism of microencapsulation with urea-formaldehyde polymer. *American Journal of Applied Sciences* 7, (6): 739-745.
 - Negahban *et al.*, 2006a; Negahban *et al.*, 2007). بنابراین اثرات دورکنندگی اسانس را می‌توان عمدتاً به ترکیب‌های فوق نسبت داد. از این رو با تکنیک نانوکپسول کردن اسانس، قدرت رهایش سریع ماده مؤثره آن کم شده و تأثیر کارایی دورکنندگی آن با گذشت زمان افزایش می‌یابد. همچنین به دلیل پخش یکنواخت‌تر و قدرت مواجهه بیشتر با سطح بدن حشره، قدرت دورکنندگی اسانس را بالا می‌برد. بنابراین نانوکپسوله کردن اسانس‌ها نقش عمده و بسزایی در کارآمدی و مؤثرتر واقع شدن آنها در کنترل آفات دارد.
- ### منابع مورد استفاده
- شاکرمی، ج، ۱۳۸۳. بررسی اثرات حشره‌کشی اسانس‌ها، آلکالوئیدهای استروئیدی و ایندولی چهار گونه گیاه روی برخی از حشرات و شناسایی ترکیب شیمیایی آنها. رساله دکتری، دانشگاه تربیت مدرس.
 - نگهبان، م. و محرمی‌پور، س، ۱۳۸۵. اثر دورکنندگی و دوام اسانس *Artemisia sieberi* روی سه گونه آفت انباری. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۲(۴): ۲۹۳-۳۰۲.
 - Digilio, M.C., Mancini, E., Voto, E. and De Feo, V., 2008. Insecticide activity of Mediterranean essential oils. *Journal of Plant Interactions*, 3(1): 17-23.
 - Duke, O.S., 1990. Natural pesticides from plants: 511-517. In: Janick, J. and Simon, J.E., (Eds). *Advances in New Crops*. Timber Press, Portland, 560p.
 - Eltayeb, E., Zhang, G.A., Xie, J.G. and Mi, F.Y., 2010. Study on the effect of Allylthiocyanate formulations on three lepidopterous insect larvae, the diamond back moth, *Plutella xylostella* (L.), the small cabbage white butterfly, *Pieris rapae* (L.) and tobacco cut worm, *Spodoptera litura* Fabr. *American Journal of Environmental Sciences*, 6(2): 168-176.
 - Keita, S.M., Vincent, C., Schmit, J.P., Ramaswamy, S. and Belanger, A., 2000. Effect of various essential oils on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 36(4): 355-364.
 - Kogan, M. and Goeden, R.D., 1970. The host-plant range of *Lema trilineata daturaphila* (Coleoptera:

- Weaver, D.K., Phillips, T.W., Dunkle, F.V., Weaver, T., Grubb, R.T. and Nance, E.L., 1995. Dried leaves from rocky mountain decrease infestation by stored-product beetles. *Journal of Chemical Ecology*, 21(2): 127-142.
- Yi, C.G., Kwonl, M., Hieu, T.T., Jang, Y.S. and Ahn, Y.J., 2007. Fumigant toxicity of plant essential oil to *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) and *Cotesia glomerata* (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 10(2): 157-163.
- 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.
- Reddy, G.V.P., Tabone, E. and Smith, M.T., 2004. Mediation of host selection and oviposition behavior in the diamondback moth *Plutella xylostella* and its predator *Chrysoperla carnea* by chemical cues from oil crops. *Biological Control*, 29(2): 270-277.
- Sahaf, B.Z., Moharramipour, S., Meshkatsadat, M.H. and Filekesh, E., 2008. Repellent activity and persistence of the essential oils from *Carum copticum* and *Vitex pseudo-negundo* on *Tribolium castaneum*. *Integrated Protection of Stored Products*, 40: 205-210.
- Wang, J., Zhu, F., Zhou, X.M., Niu, C.Y. and Lei, C.L., 2006. Repellent and fumigant activity of essential oil from *Artemisia vulgaris* to *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Stored Products Research*, 42(3): 339-347.

Repellent activity of nanoencapsulated essential oil of *Artemisia sieberi* Besser on *Plutella xylostella* L. larvae

M. Negahban¹, S. Moharramipour^{2*}, M. Zand³ and S.A. Hashemi⁴

1- Department of Entomology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

2*- Corresponding author, Department of Entomology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

E-mail: moharami@modares.ac.ir

3- Department of Biomaterials, Iran Polymer Institute, Tehran, Iran

4- Department of Drug Delivery, Iran Polymer Institute, Tehran, Iran

Received: November 2011

Revised: February 2012

Accepted: February 2012

Abstract

Recent research has focused on insecticidal property of essential oil plants in biological control of insects. Controlled release by nanoencapsulated essential oil seems to be the best choice for increasing the efficiency and minimization of environmental damage. In this work, efficiency of nanoencapsulated essential oil of *Artemisia sieberi* Besser was tested on repellent activity of *Plutella xylostella* L.. Several concentrations were prepared and then third instars larvae were introduced into each treatment. Then, repellent activity was determined after 1, 3, 6, 12 and 24 h from commencement of exposure. Results showed that at 1.9 ppm the nanocapsule of *Artemisia* oil was shown here to possess more repellent activity (80%) to *P. xylostella* compared to *Artemisia* oil (62%) before formulation after 24h. The repellent activity varied with application method and concentrations and exposure time. The results showed higher repellent rates in nanocapsule than in essential oil due to controlled-release formulations allowing smaller quantities of essential oil to be used more effectively over a given time interval. The reasons for nanocapsulating the essential oil have been to improve its stability to reduce side effects or to reduce dosing frequency and total dosing amount, to obtain better repellent activity, and for sustained (long-lasting) release. Therefore the nanocapsulation of *A. sieberi* might provide a new method for the management of *P. xylostella*.

Key words: *Artemisia sieberi* Besser, *Plutella xylostella* L., essential oil, repellent, nanocapsule.