

کارآیی فرمولاسیون نانوکپسول اسانس بذر زنیان، *Carum copticum*، روی رفتار تغذیه‌ای شب‌پره‌یپشت الماسی، (*Plutella xylostella* (Lep.: Plutellidae))مهدی جمال^۱، سعید محرمی‌پور^{۱*}، مژگان زندی^۲ و مریم نگهبان^۱

۱- گروه حشره‌شناسی کشاورزی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ۲- پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران، تهران.

*مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: moharami@modares.ac.ir

Efficacy of nanoencapsulated formulation of essential oil from *Carum copticum* seeds on feeding behavior of *Plutella xylostella* (Lep.: Plutellidae)M. Jamal¹, S. Moharrampour^{1&*}, M. Zandi² and M. Negahban¹

1. Department of Entomology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran, 2. Iran Polymer and Petrochemical Institute, Tehran, Iran.

*Corresponding author, E-mail: moharami@modares.ac.ir

چکیده

به منظور افزایش کارآیی و تأثیر طولانی‌تر اسانس‌ها، استفاده از کپسوله کردن اسانس در ابعاد نانو و میکرو می‌تواند راه حل مؤثری باشد. در این مطالعه، تأثیر ضد تغذیه‌ای فرمولاسیون جدید نانوکپسول اسانس استخراج شده از بذر زنیان، *Carum copticum* C. B. Clarke، روی لارو شب‌پره‌ی پشت الماسی، (*Plutella xylostella* (L.))، مورد بررسی قرار گرفت. جهت تعیین شاخص‌های تغذیه‌ای لارو شب‌پره‌ی مذکور تحت تأثیر فرمولاسیون اسانس زنیان، به‌طور روزانه وزن غذای خورده شده، افزایش وزن لاروی و وزن فضولات تولید شده، به مدت سه روز ثبت شد. آزمایش در شرایط دمایی 1 ± 27 درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی 5 ± 65 درصد و دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انجام شد. نتایج نشان داد که فرمولاسیون نانوکپسول اسانس زنیان به‌طور معنی‌داری نرخ مصرف نسبی غذا، نرخ رشد نسبی، بازده تبدیل غذای خورده شده و بازده تبدیل غذای هضم شده را کاهش داده است. همچنین، شاخص تقریبی هضم شونده‌ی در مقایسه با شاهد به‌طور معنی‌داری پس از گذشت سه روز تغذیه کاهش یافت، درحالی‌که شاخص بازدارندگی تغذیه‌ای در مقایسه با شاهد معنی‌دار نشد. نتایج به‌دست آمده حاکی از آن است که فرمولاسیون نانوکپسول موجب رها سازی کنترل شده و تدریجی اسانس شده و اثرات سمیت تغذیه‌ای اسانس را به‌طور مؤثری افزایش داده است.

واژگان کلیدی: *Carum copticum*، *Plutella xylostella*، نانوکپسول، اسانس گیاهی، شاخص‌های تغذیه

Abstract

In order to increase the efficiency of essential oils, the use of formulations with controlled release of the oil encapsulated in micro- and nano-scales would be the best option. In this research, the antifeedant activity of nanoencapsulated essential oil of *Carum copticum* C. B. Clarke was investigated on *Plutella xylostella* (L.) larvae. To determine the nutritional indices of the larvae affected by the formulated essential oil, weight of ingested food, larval biomass and weight of feces produced were recorded daily for three days. The experiments were conducted at $27 \pm 1^\circ\text{C}$, $65 \pm 5\%$ RH and photoperiod of 16: 8 h light: dark. Results indicated a significant decrease in nutritional indices such as relative consumption rate, relative growth rate, efficacy of conversion of ingested food and efficacy of conversion of digested food as concentration of the oil increased. Moreover, digestibility was decreased significantly, 72 h after feeding. However, feeding deterrence index was not significantly increased as compared with control. The finding led to a conclusion that nanoencapsulated oil has potential to control release of the essential oils and increase in post-ingestive toxicity of the insect.

Key words: *Plutella xylostella*, *Carum copticum*, nanoencapsulation, plant essential oil, nutritional indices

مقدمه

آفت‌کش‌ها مقاوم شده است (Reddy et al., 2004).

افزایش سطح مقاومت آفات باعث استفاده‌ی بیش از حد حشره‌کش‌های پردامنه و افزایش میزان مصرف شده، که خود اختلال در محیط زیست و سلامتی انسان را به‌همراه داشته است (Yi et al., 2007). به‌همین منظور برای کنترل این حشره استفاده از استراتژی کنترل تلفیقی آفات مورد توجه زیادی قرار گرفته است که در

استفاده‌ی بی‌رویه‌ی آفت‌کش‌های شیمیایی باعث به خطر انداختن سلامتی موجودات زنده، به‌ویژه انسان، آلوده کردن محیط زیست و همچنین افزایش مقاومت در حشرات آفت شده است. شب‌پره‌ی پشت الماسی، (*Plutella xylostella* (L.))، یکی از آفات مهم خانواده‌ی چلیپاییان به‌شمار می‌آید که در دنیا تقریباً به انواع

اسانس گیاه زنیان، *Carum copticum* C. B. Clarke، از قبل به اثبات رسیده بود (Sahaf & Moharramipour, 2009)، لذا تأثیر ضدتغذیه‌ای فرمولاسیون نانوکپسول اسانس این گیاه روی شب‌پره‌ی پشت الماسی مورد بررسی قرار گرفت.

گیاه زنیان، گیاهی است دارویی از تیره‌ی Apiaceae که بیش از پنج درصد اسانس دارد و به‌عنوان یک محصول تجاری در صنایع غذایی مصرف می‌شود. سمیت تنفسی اسانس زنیان روی حشرات بالغ *Tribolium castaneum* (Herbst) و *Sitophilus oryzae* (L.) و نیز مراحل رشدی *Callosobruchus maculatus* (F.) (Sahaf et al., 2007; Sahaf & Moharramipour, 2008) و شب‌پره‌ی هندی، *Plodia interpunctella* (Hubner) (Shojaaddini et al., 2008) به اثبات رسیده است. بررسی‌های متعدد انجام شده نشان می‌دهد که مواد فرار اسانس در غلظت‌های زیرکشنده عموماً اجازه‌ی تغذیه به حشرات را نداده و به‌شدت اثرات بازدارندگی تغذیه‌ای دارند (Negahban & Moharramipour, 2007; Sahaf & Moharramipour, 2008). به‌همین دلیل اثرات سمیت تغذیه‌ای اسانس‌های گیاهی به‌خوبی آشکار نشده است. بنابراین، عوامل کاهش وزن در حشرات تیمار شده به اثرات بازدارندگی، اجتناب از تغذیه و تحمل گرسنگی در طول آزمایش نسبت داده شده است. از آنجاکه در فرمولاسیون جدید، اسانس‌های گیاهی کپسوله می‌شوند، انتظار آن است که تأثیر بازدارندگی تغذیه‌ای اسانس به حداقل ممکن کاهش یابد. لذا یکی از اهداف اصلی پژوهش این است که حشرات امکان تغذیه از غذای اسانس‌دار را داشته باشند و اثرات سمیت پس از تغذیه‌ای اسانس گیاهی مورد بررسی قرار گیرد. به‌علاوه، از آنجاکه فرمولاسیون تهیه شده با آب رقیق می‌شود، می‌توان فرمولاسیون فوق را روی گیاه زراعی آزمایش نمود. لذا در این پژوهش برای اولین بار

آن، دشمنان طبیعی و کنترل حشره‌ی مورد نظر از عوامل کلیدی به‌حساب می‌آیند (Guan-Soon, 1990; Talekar & Shelton, 1993).

اسانس‌های گیاهی شامل ترکیبات آروماتیک گیاهی متنوعی هستند که به‌تازگی به دلیل طیف وسیع فعالیت، سمیت کم روی موجودات غیرهدف، استفاده به‌عنوان چاشنی غذا و همچنین معاف بودن از قوانین ثبت آفت‌کش‌ها توجه بسیاری را به‌خود جلب کرده‌اند (Isman, 2004). این ترکیبات در ده سال اخیر به‌عنوان حشره‌کش‌های تجاری در حال گسترش بوده و جایگزینی برای سموم شیمیایی هستند که مقاومت به آن‌ها بروز کرده است؛ زیرا بعضی از ویژگی‌های خاص گیاهان یا مواد شیمیایی گیاهی می‌تواند تأثیر بیش‌تری علیه افزایش مقاومت حشرات آفت داشته باشد (Yi et al., 2007). فرار بودن، حلالیت پایین در آب، اکسید شدن سریع، بی‌ثباتی شیمیایی اسانس‌های گیاهی در حضور هوا، نور، رطوبت و دمای بالا (Pillmoor et al., 1993) باعث می‌شود که قبل از کاربرد اسانس‌ها در کنترل آفات، به فکر یافتن روش جدیدی بود تا کارایی اسانس‌ها را افزایش دهد. یکی از مهم‌ترین روش‌ها، استفاده از فرمولاسیون جدید و ایجاد تغییراتی است که می‌تواند روی اسانس‌ها اعمال شود تا کیفیت و میزان تأثیر آن‌ها افزایش یابد. انتخاب فرمولاسیون بستگی به عوامل فیزیکی، شیمیایی، خواص زیستی اسانس، نحوه‌ی اثر، چگونگی کاربرد و نوع محصول دارد. به‌منظور افزایش کارآمدی و کاهش خطرات زیست‌محیطی، به‌نظر می‌رسد، فرمولاسیون رهایش کنترل‌شده (controlled release) بهترین گزینه باشد (Maji et al., 2007). از این‌رو، کپسوله کردن اسانس به فرم نانو و میکرو باعث ایجاد توانایی رهایش کنترل‌شده، افزایش تأثیر و فعالیت زیستی طولانی‌تر آن می‌شود (Lai et al., 2006). از آنجاکه اثرات ضدتغذیه‌ای

(*in situ polymerization technique*) به روش امولسیون‌ی روغن در آب (O/W) استفاده شد (Negahban *et al.*, 2012). به‌طور خلاصه، اسانس به‌عنوان هسته‌ی نانوکپسول و اوره و فرمالدئید ۳۷٪ به‌عنوان پیش‌پلیمرهای (U-F) دیواره‌ی نانوکپسول انتخاب شدند. به‌منظور تهیه‌ی پیش‌پلیمر از راکتور مجهز به هم‌زن مکانیکی استفاده شد. بعد از آماده شدن پیش‌پلیمر اوره و فرمالدئید (U-F)، امولسی‌فایر ۲٪ به‌صورت تدریجی و سپس اسانس به‌صورت قطره‌قطره اضافه گردید. پس از آن در pH اسیدی دیواره‌ی پلی‌اوره‌فرمالدئید تشکیل شد. بعد از گذشت چهار ساعت، شکل نانوکپسول‌های تشکیل شده در بهترین حالت خود حفظ و درنهایت سوسپانسیون نانوکپسول به‌روش انجمادی خشک شد.

بررسی شاخص تغذیه‌ای فرمولاسیون نانوکپسول اسانس گیاه زنیان روی لارو شب‌پره‌ی پشت‌الماسی

برای ارزیابی خواص ضدتغذیه‌ای فرمولاسیون نانوکپسول حاوی اسانس گیاه زنیان، از غلظت‌های LC₁₀، LC₁₅ و LC₂₅ حاصل از سمیت تغذیه‌ای فرمولاسیون نانوکپسول اسانس گیاه زنیان، به‌ترتیب ۳۶۹۶، ۴۴۶۴ و ۶۱۲۰ پی‌پی‌ام اسانس خالص، استفاده شد. تیمار شاهد شامل فرمولاسیون بدون اسانس بود (Jamal, 2012). هر برگ گیاه کلزا به‌عنوان سطح تغذیه‌ی حشرات به‌مدت ۳۰ ثانیه در ۵ میلی‌لیتر محلول غوطه‌ور و سپس ۲۰ دقیقه زیر هود گذاشته شد تا حلال تبخیر شود. برای شروع آزمایش از لاروهای سن سوم شب‌پره‌ی پشت‌الماسی استفاده شد. پارامترهای مورد ارزیابی شامل مقدار غذای خورده‌شده، افزایش وزن لارو و مقدار فضولات تولیدشده بود که به‌مدت سه روز تغذیه از زمان ظهور لاروهای سن سوم تا پایان لارو سن چهارم به‌طور روزانه ارزیابی شدند. وزن مورد استفاده برای تجزیه و تحلیل، وزن خشک بود. برای

تأثیر ضدتغذیه‌ای فرمولاسیون نانوکپسول اسانس گیاه زنیان روی لارو شب‌پره‌ی پشت‌الماسی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه‌ی گیاه و پرورش حشره

بذور گیاه زنیان از مرکز تحقیقات جهاد دانشگاهی تهیه شد. این بذور در پاکت‌های کاغذی بسته‌بندی و در فریزر در دمای ۲۴- درجه‌ی سلسیوس نگه‌داری شدند. شب‌پره‌ی پشت‌الماسی، *P. xylostella*، در اتاقک رشد با دمای ۱ ± ۲۷ درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی ۵ ± ۶۵ درصد، دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی روی گیاه کلزا رقم Opera پرورش داده شد.

تهیه‌ی اسانس

جهت تهیه‌ی اسانس، ابتدا بذور گیاه زنیان با کمک خردکن برقی خرد شدند. در هر نوبت اسانس‌گیری، ۴۰ گرم بذر گیاه با ۶۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر با استفاده از دستگاه اسانس‌گیر شیشه‌ای مدل Clevenger (ساخت سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران) در دمای ۱۰۰ درجه‌ی سلسیوس به‌روش تقطیر با آب اسانس‌گیری شد. زمان اسانس‌گیری برای هر نمونه چهار ساعت بود. اسانس‌های جمع‌آوری شده با کمک سولفات سدیم آب‌گیری شده و تا زمان استفاده، در ظروف شیشه‌ای به حجم ۲ میلی‌لیتر با روپوش آلومینیومی، داخل یخچال در دمای ۴ درجه‌ی سلسیوس نگه‌داری شدند (Negahban *et al.*, 2006).

تهیه‌ی فرمولاسیون نانوکپسول اسانس گیاهی

برای تهیه‌ی فرمولاسیون نانوکپسول اسانس بذر زنیان از روش پلیمراسیون هم‌زمان

Wf وزن خشک (mg) فضولات تولیدشده به ازای هر لارو است.

$$- AD (\%) = [(Wi - Wf) / Wi] \times 100$$

در این رابطه، AD شاخص تقریبی هضم شونده‌گی (Approximate digestibility) است.

$$- FDI (\%) = [(C - F) / C] \times 100$$

در این رابطه، FDI شاخص بازدارندگی تغذیه‌ای (Feeding deterrence index)، C مقدار غذای خورده شده (mg) در شاهد به ازای هر لارو و F مقدار غذای خورده شده (mg) در تیمار به ازای هر لارو است.

تجزیه و تحلیل آماری

قبل از تجزیه آماری داده‌ها، نرمال بودن آن‌ها با استفاده از نرم افزار MINITAB14 بررسی و در صورت نیاز با استفاده از رابطه‌ی $\sqrt{\frac{x}{100}}$ Arcsine نرمال شدند. برای مقایسه‌ی اثر غلظت‌های مختلف هر فرمولاسیون روی شاخص‌های تغذیه از تجزیه‌ی واریانس یک‌طرفه استفاده شد و در صورت معنی دار شدن، میانگین‌ها توسط آزمون توکی در سطح ۰.۰۵٪ مقایسه شدند. تجزیه‌های آماری توسط برنامه‌ی SPSS 16 انجام گرفت.

نتایج

تأثیر فرمولاسیون نانوکپسول اسانس گیاه زنیان روی نرخ مصرف نسبی غذا

نتایج حاصل از تجزیه‌ی آماری نشان داد که با به کار بردن فرمولاسیون اسانس گیاه زنیان روی غذای لارو شب‌پره‌ی پشت‌الماسی، نرخ مصرف نسبی غذا در مدت سه روز پس از تغذیه به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول‌های ۱ تا ۳). پس از سه روز تغذیه، نتایج تجزیه‌ی واریانس نشان داد که اثر غلظت‌های مختلف

محاسبه‌ی وزن خشک، برگ‌های مورد استفاده در آزمایش‌ها، فضولات تولیدشده و لاروهای مشابه لاروهای به کار رفته در آزمایش در پنج تکرار داخل آن ۶۵ درجه‌ی سلسیوس به مدت دو روز قرار داده شدند. سپس وزن خشک آن‌ها با ترازوی یک‌ده‌هزارم گرم به دست آمد. پس از تعیین مقدار وزن خشک (mg)، شاخص‌های تغذیه با استفاده از رابطه‌های زیر محاسبه شد (Waldbauer, 1968). آزمایش در ۷ تکرار و در شرایط دمایی 1 ± 27 درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی 5 ± 65 درصد، شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انجام گرفت.

$$- RCR (\text{mg/mg/day}) = Wi / (T \times W0)$$

در این رابطه، RCR شاخص نرخ مصرف نسبی غذا (Relative consumption rate)، Wi وزن خشک (mg) غذای خورده شده به ازای هر لارو پس از زمان T (زمان تغذیه‌ی لارو از غذا بر حسب روز) و W0 وزن خشک (mg) اولیه‌ی هر لارو قبل از تغذیه است.

$$- RGR (\text{mg/mg/day}) = (Wt - W0) / (T \times W0)$$

در این رابطه، RGR شاخص نرخ رشد نسبی (Relative growth rate) و Wt وزن خشک (mg) هر لارو پس از تغذیه از رژیم غذایی در مدت T است.

$$- ECI (\%) = [(Wt - W0) / Wi] \times 100$$

در این رابطه، ECI شاخص بازده تبدیل غذای خورده شده (Efficacy of conversion of ingested food) است.

$$- ECD (\%) = [(Wt - W0) / (Wi - Wf)] \times 100$$

در این رابطه، ECD شاخص بازده تبدیل غذای هضم شده (Efficacy of conversion of digested food) و

از سه روز تغذیه، اثر این فرمولاسیون روی شاخص بازده تبدیل غذای خورده‌شده‌ی لارو مورد آزمایش در غلظت‌های مختلف اختلاف معنی‌داری در سطح ۱٪ با یکدیگر دارند ($F = 16/408$; $df = 3, 24$; $P < 0/001$).
باتوجه به نتایج حاصل از آزمایش، پس از سه روز تغذیه، غلظت ۳۶۹۶ پی‌پی‌ام از این فرمولاسیون، اختلاف معنی‌داری روی شاخص بازده تبدیل غذای خورده‌شده نداشت ولی در غلظت‌های بالاتر (۴۴۶۴ و ۶۱۲۰ پی‌پی‌ام)، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ با شاهد مشاهده شد (جدول ۳).

تأثیر فرمولاسیون نانوکپسول اسانس گیاه زنیان روی شاخص بازده تبدیل غذای هضم‌شده

نتایج حاصل از تجزیه‌ی آماری شاخص بازده تبدیل غذای هضم‌شده نشان داد که کاربرد فرمولاسیون اسانس گیاه زنیان روی لارو شب‌پره‌ی پشت‌الماسی در مدت زمان دو و سه روز پس از تغذیه به‌طور معنی‌داری باعث کاهش این شاخص شد (جدول‌های ۱ تا ۳). نتایج تجزیه‌ی واریانس نیز نشان‌دهنده‌ی آن است که این فرمولاسیون در غلظت‌های مختلف دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ است ($F = 10/638$; $df = 3, 24$; $P < 0/001$). با افزایش غلظت، مقدار این شاخص نیز کاهش یافت، ولی تنها در غلظت‌های ۴۴۶۴ و ۶۱۲۰ پی‌پی‌ام اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ نسبت به شاهد مشاهده شد (جدول‌های ۲ و ۳).

تأثیر فرمولاسیون نانوکپسول اسانس گیاه زنیان روی شاخص تقریبی هضم‌شوندگی

بررسی نتایج تجزیه‌ی آماری شاخص تقریبی هضم‌شوندگی لارو شب‌پره‌ی پشت‌الماسی نشان داد که با کاربرد فرمولاسیون نانوکپسول در رژیم غذایی، مقدار

این فرمولاسیون روی نرخ مصرف نسبی غذای لارو مورد آزمایش، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ دارد ($F = 3/462$; $df = 3, 24$; $P = 0/032$). با افزایش غلظت فرمولاسیون نانوکپسول، مقدار نرخ مصرف نسبی غذا فقط در غلظت بالا (۶۱۲۰ پی‌پی‌ام) اختلاف معنی‌داری با شاهد داشت (جدول‌های ۱ تا ۳).

تأثیر فرمولاسیون نانوکپسول اسانس گیاه زنیان بر نرخ رشد نسبی

نتایج حاصل از تجزیه‌ی آماری نشان داد که با به‌کار بردن فرمولاسیون اسانس گیاه زنیان روی غذای لارو شب‌پره‌ی پشت‌الماسی، نرخ رشد نسبی در مدت سه روز پس از تغذیه به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول‌های ۱ تا ۳). همچنین، نتایج تجزیه‌ی واریانس نشان‌دهنده‌ی آن است که اثر این فرمولاسیون روی نرخ رشد نسبی لارو مورد آزمایش در غلظت‌های مختلف، پس از سه روز تغذیه دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ می‌باشد ($F = 9/147$; $df = 3, 24$; $P < 0/001$). غلظت پایین ۳۶۹۶ پی‌پی‌ام از فرمولاسیون نانوکپسول اسانس در مدت سه روز پس از تغذیه با شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت ولی غلظت‌های ۴۴۶۴ و ۶۱۲۰ پی‌پی‌ام در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری نسبت به شاهد نشان دادند (جدول ۳).

تأثیر فرمولاسیون نانوکپسول اسانس گیاه زنیان روی شاخص بازده تبدیل غذای خورده‌شده

نتایج حاصل از تجزیه‌ی آماری نشان داد که با به‌کار بردن فرمولاسیون اسانس گیاه زنیان، شاخص بازده تبدیل غذای خورده‌شده‌ی لارو شب‌پره‌ی پشت‌الماسی تنها پس از گذشت دو و سه روز تغذیه به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول‌های ۲ و ۳). براساس نتایج به‌دست آمده از تجزیه‌ی واریانس، پس

جدول ۱- اثر فرمولاسیون نانوکپسول اسانس گیاه زنیان، *Carum copticum*، در غلظت‌های مختلف، روی شاخص‌های تغذیه‌ای لارو سن سوم *Plutella xylostella* بعد از ۲۴ ساعت تغذیه.

Table 1. The effect of different concentrations of nanoencapsulated essential oil of *Carum copticum* on nutritional indices of *Plutella xylostella* third instar larvae after 24 h feeding.

Concentration (ppm)	Nutritional indices (Mean ± SE)					
	RCR (mg/mg/day)	RGR (mg/mg/day)	ECI (%)	ECD (%)	AD (%)	FDI (%)
0	28.82 ± 3.679 a	1.21 ± 0.145 a	2.77 ± 0.105 b	7.31 ± 1.644 a	93.84 ± 1.591 a	-
3696	22.82 ± 3.797 ab	0.91 ± 0.051 a	4.66 ± 1.209 ab	5.29 ± 1.472 a	91.24 ± 2.135 a	32.00 ± 0.756 a
4464	19.15 ± 3.461 ab	0.92 ± 0.045 a	5.96 ± 1.117 ab	6.73 ± 1.428 a	91.11 ± 2.115 a	33.71 ± 1.229 a
6120	12.18 ± 1.639 b	1.13 ± 0.108 a	8.07 ± 1.702 a	8.15 ± 1.800 a	88.65 ± 2.471 a	35.00 ± 0.535 a

Means followed by the same letters in each column do not differ significantly using Tukey's test at $P < 0.05$.

RCR = Relative consumption rate, RGR = Relative growth rate, ECI = Efficacy of conversion of ingested food, ECD = Efficacy of conversion of digested food, AD = Approximate digestibility, FDI = Feeding deterrence index.

جدول ۲- اثر فرمولاسیون نانوکپسول اسانس گیاه زنیان، *Carum copticum*، در غلظت‌های مختلف، روی شاخص‌های تغذیه‌ای لارو سن سوم *Plutella xylostella* بعد از ۴۸ ساعت تغذیه.

Table 2. The effect of different concentrations of nanoencapsulated essential oil of *Carum copticum* on nutritional indices of *Plutella xylostella* third instar larvae after 48 h feeding.

Concentration (ppm)	Nutritional indices (Mean ± SE)					
	RCR (mg/mg/day)	RGR (mg/mg/day)	ECI (%)	ECD (%)	AD (%)	FDI (%)
0	42.50 ± 3.513 a	1.72 ± 0.178 a	3.94 ± 0.475 a	4.55 ± 0.661 a	93.84 ± 1.082 a	-
3696	30.21 ± 2.194 b	0.91 ± 0.066 b	2.78 ± 0.385 ab	3.29 ± 0.539 ab	93.19 ± 1.199 a	24.43 ± 0.896 a
4464	33.70 ± 2.437 b	0.59 ± 0.127 b	1.71 ± 0.322 b	1.89 ± 0.370 b	91.10 ± 1.094 a	26.57 ± 0.896 a
6120	27.73 ± 1.926 b	0.49 ± 0.055 b	1.47 ± 0.150 b	1.64 ± 0.178 b	90.00 ± 1.294 a	27.86 ± 1.056 a

Means followed by the same letters in each column do not differ significantly using Tukey's test at $P < 0.05$.

RCR = Relative consumption rate, RGR = Relative growth rate, ECI = Efficacy of conversion of ingested food, ECD = Efficacy of conversion of digested food, AD = Approximate digestibility, FDI = Feeding deterrence index.

جدول ۳- اثر فرمولاسیون نانوکپسول اسانس گیاه زنیان، *Carum copticum*، در غلظت‌های مختلف، روی شاخص‌های تغذیه‌ای لارو سن سوم *Plutella xylostella* بعد از ۷۲ ساعت تغذیه.

Table 3. The effect of different concentrations of nanoencapsulated essential oil of *Carum copticum* on nutritional indices of *Plutella xylostella* third instar larvae after 72 h feeding.

Concentration (ppm)	Nutritional indices (Mean ± SE)					
	RCR (mg/mg/day)	RGR (mg/mg/day)	ECI (%)	ECD (%)	AD (%)	FDI (%)
0	57.39 ± 7.598 a	1.42 ± 0.212 a	3.46 ± 0.212 a	3.55 ± 0.236 a	92.97 ± 1.030 a	-
3696	41.12 ± 5.287 ab	1.18 ± 0.135 ab	2.60 ± 0.392 a	2.91 ± 0.459 ab	88.63 ± 0.346 ab	26.29 ± 0.522 a
4464	38.12 ± 3.989 ab	0.62 ± 0.125 bc	1.56 ± 0.205 b	1.82 ± 0.265 bc	87.05 ± 1.763 ab	27.14 ± 0.800 a
6120	36.73 ± 1.912 b	0.50 ± 0.069 c	1.18 ± 0.141 b	1.38 ± 0.183 c	86.45 ± 1.420 b	28.71 ± 0.680 a

Means followed by the same letters in each column do not differ significantly using Tukey's test at $P < 0.05$.

RCR = Relative consumption rate, RGR = Relative growth rate, ECI = Efficacy of conversion of ingested food, ECD = Efficacy of conversion of digested food, AD = Approximate digestibility, FDI = Feeding deterrence index.

نانوکپسول اسانس گیاه زنیان پس از گذشت سه روز تغذیه روی شاخص تقریبی هضم‌شوندگی لارو مورد آزمایش، در غلظت‌های مختلف دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ بود ($F = ۳/۴۳۱$ ؛

این شاخص در غلظت‌های مختلف کاهش یافت و این کاهش بعد از گذشت سه روز تغذیه از شروع آزمایش بین تیمارهای مختلف معنی‌دار شد (جدول‌های ۱ تا ۳). نتایج تجزیه‌ی واریانس نشان داد که اثر فرمولاسیون

در بالاترین غلظت نسبت به شاهد تقریباً به نصف کاهش یافت و اثر بازدارندگی غذا حدود ۳۵ درصد ثبت شد. باین وجود، بازده تبدیل غذای خورده‌شده و هضم‌شده به‌طور غیر قابل انتظار نسبت به شاهد افزایش داشت. در توجیه این مطلب شاید بتوان نتیجه گرفت که هنوز حشره به‌قدر کافی اسانس مورد نظر را دریافت نکرده است و شاید این مدت برای بروز اثرات سمی کافی نباشد. اما از طرفی چون فرمولاسیون نانوکپسول حاوی اوره (ازت) و فرمالدئید می‌باشد، شاید دیواره‌ی کپسول‌ها اثر غذایی در بهبود و جبران کمبود تغذیه برای رشد را در پی داشته است. بنابراین، موضوع فوق بسیار جالب بوده و در تحقیقات بعدی نیاز به بررسی‌های بیش‌تری دارد. پژوهش‌های متعدد انجام شده در مورد تأثیر اسانس‌های گیاهی روی شاخص‌های تغذیه‌ای، مانند اسانس گیاه زنیان روی شاخص‌های تغذیه‌ای شپشه آرد (Sahaf & Moharramipour, 2009)، مؤید این مطلب است که اسانس‌ها عمدتاً اثرات ضدتغذیه‌ای خود را به‌صورت بازدارندگی تغذیه بروز داده و موجب کاهش تغذیه و در پی آن کاهش وزن می‌شوند، در صورتی‌که اثر چندان زیادی روی بازده تبدیل غذا ندارند (Jiang *et al.*, 2012).

در ادامه‌ی آزمایش‌های انجام شده در این پژوهش، زمانی‌که لارو در غلظت بالا به‌مدت دو روز از غذای آغشته به نانوکپسول تغذیه کرد، میزان تغذیه در مقایسه با شاهد به نصف کاهش یافت اما کم شدن وزن تقریباً کم‌تر از سه برابر وزن نسبت به شاهد بود. این در حالی است که شاخص بازدارندگی تغذیه در غلظت‌های مختلف معنی‌دار نبود اما همان‌طور که انتظار می‌رفت اثرات سمیت پس از تغذیه به‌صورت چشم‌گیری بروز یافت، به‌طوری‌که بازده تبدیل غذای خورده‌شده (برعکس تغذیه ۲۴ ساعته) به نصف کاهش پیدا کرد. بنابراین، علت اصلی کاهش وزن را می‌توان

با افزایش غلظت، مقدار شاخص هضم‌شوندگی کاهش یافت ولی این کاهش تنها در غلظت بالا (۶۱۲۰ پی‌پی‌ام) پس از گذشت سه روز تغذیه اختلاف معنی‌داری نسبت به شاهد داشت (جدول ۳).

تأثیر فرمولاسیون نانوکپسول اسانس گیاه زنیان روی شاخص بازدارندگی تغذیه‌ای

نتایج تجزیه‌ی آماری شاخص بازدارندگی تغذیه‌ای لارو شب‌پره‌ی پشت‌الماسی نشان داد که با کاربرد فرمولاسیون نانوکپسول در رژیم غذایی، مقدار این شاخص در غلظت‌های مختلف در مدت یک، دو و سه روز پس از تغذیه افزایش یافت (جدول‌های ۱ تا ۳). همچنین، پس از سه روز تغذیه، نتایج تجزیه‌ی واریانس نشان داد که اثر فرمولاسیون نانوکپسول اسانس گیاه زنیان روی شاخص بازدارندگی تغذیه‌ای لارو مورد آزمایش، در غلظت‌های مختلف اختلاف معنی‌داری نداشت ($F = 3/312$; $df = 2, 18$; $P = 0/060$). با افزایش غلظت، کاهش معنی‌داری در مقدار شاخص بازدارندگی تغذیه‌ای نسبت به شاهد مشاهده نشد (جدول‌های ۱ تا ۳).

بحث

به‌طور کلی، فرمولاسیون نانوکپسول اسانس گیاه زنیان، به‌ویژه در غلظت‌های بالا، شاخص‌های غذایی لارو سن سوم شب‌پره‌ی پشت‌الماسی، نظیر نرخ مصرف نسبی غذا، نرخ رشد نسبی، شاخص بازده تبدیل غذای خورده‌شده، شاخص بازده تبدیل غذای هضم‌شده و شاخص تقریبی هضم‌شوندگی را به‌طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد کاهش داد. هنگامی‌که لارو سن سوم به مدت ۲۴ ساعت از غذای آغشته به اسانس فرموله‌شده تغذیه کرد، میزان مصرف نسبی غذا

خورده شده که مشخصه‌ای از سمیت گوارشی است، به اثبات رساند؛ زیرا بازده تبدیل غذا به بیش از سه برابر کاهش یافته است. نتایج Moretti *et al.* (2002) نشان داد که میزان مرگ و میر لارو (*Lymantria dispar* (L.) در اثر تغذیه‌ی برگ آغشته به فرمولاسیون میکروکپسول بعد از دو و سه روز تفاوت معنی‌داری را با شاهد ایجاد کرد، که با یافته‌های حاصل از تحقیق حاضر مطابقت دارد.

به‌عنوان نتیجه‌گیری نهایی می‌توان دریافت که اسانس به‌صورت کپسوله درآمده و به‌تدریج آزاد می‌شود، لذا در مدت زمان مشخص مقدار ماده‌ی فعال آزاد شده نسبت به اسانس خالص کم‌تر می‌باشد. از آنجایی که کپسوله کردن اسانس باعث کاهش خاصیت بازدارندگی در روزهای اولیه‌ی افزایش تغذیه نسبت به اسانس خالص می‌شود، می‌توان بیش‌ترین اثر سمیت این فرمولاسیون را به سمیت گوارشی پس از تغذیه نسبت داد ولی باین‌وجود تحقیقات بیش‌تری برای اثبات این مطلب لازم است.

به اثرات سمیت غذایی اسانس نسبت داد. در این مدت، افزایش غلظت روی قدرت هضم‌شوندگی غذا نیز تأثیر معنی‌داری نداشت. چنین پدیده‌ای تاکنون در آزمایش‌های متعددی که با اسانس خالص روی حشرات انجام شده، مشاهده شده است؛ زیرا اسانس‌ها اجازه‌ی تغذیه به حشره را نمی‌دهند و عمده‌ی علل کاهش وزن به تحمل گرسنگی و اجتناب از تغذیه نسبت داده می‌شود (Sanna Passino *et al.*, 2004; Yi *et al.*, 2007; Sahaf *et al.*, 2008).

کارایی غذای خورده‌شده در تغذیه‌ی پس از سه‌روزه‌ی لارو شب‌پره‌ی پشته‌الماسی از غذای آغشته به فرمولاسیون، کاهش بیش‌تری پیدا کرده است، به‌طوری‌که علی‌رغم کاهش تغذیه به نصف، مقدار (در بالاترین غلظت) کاهش وزن سه برابر کم‌تر از شاهد شده اما وزن لارو در روز دوم نسبت به روز قبل در غلظت مشابه به کم‌تر از نصف کاهش یافته است. در اینجا نیز علت اصلی را می‌توان در بازده تبدیل غذای

منابع

- Guan-Soon, L.** (1990) Integrated pest management of diamondback moth: practical realities. pp. 565-576 in Talekar, N. S. (Ed.) *Diamondback moth and other crucifer pests*. 603 pp. Asian Vegetable Research and Development Center, Taipei, Taiwan.
- Isman, M. B.** (2004) Plant essential oils as green pesticides for pest and disease management. pp. 41-51 in Nelson, W. M. (Ed.) *Agricultural applications in green chemistry*. 216 pp. ACS Symposium Series No. 887, American Chemical Society.
- Jamal, M.** (2012) Insecticidal properties of nano-encapsulated essential oil of *Carum copticum* on *Plutella xylostella*. M. Sc. Thesis. 121 pp. Tarbiat Modares University. [In Persian with English summary].
- Jiang, Z., Akhtar, Y., Zhang, X., Bradbury, R. & Isman, M.** (2012) Insecticidal and feeding deterrent activities of essential oils in the cabbage looper, *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Applied Entomology* 136(3), 191-202.
- Lai, F., Wissing, S. A., Müller, R. H. & Fadda, A. M.** (2006) *Artemisia arborescens* L. essential oil-loaded solid lipid nanoparticles for potential agricultural application: preparation and characterization. *American Association of Pharmaceutical Scientists* 7, 1-9.
- Maji, T., Baruah, I., Dube, S. & Hussain, M.** (2007) Microencapsulation of *Zanthoxylum limonella* oil (ZLO) in glutaraldehyde crosslinked gelatin for mosquito repellent application. *Bioresource Technology* 98, 840-844.

- Moretti, M. D. L., Sanna-Passino, G., Demontis, S. & Bazzoni, E.** (2002) Essential oil formulations useful as a new tool for insect pest control. *American Association of Pharmaceutical Scientists* 3, 64-74.
- Negahban, M. & Moharramipour, S.** (2007) Efficiency of *Artemisia sieberi* and *Artemisia scoparia* essential oils on nutritional indices of *Tribolium castaneum* (Col.: Tenebrionidae). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 23, 13-22. [In Persian with English summary].
- Negahban, M., Moharramipour, S. & Sefidkon, F.** (2006) Insecticidal activity and chemical composition of *Artemisia sieberi* Besser essential oil from Karaj, Iran. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 9, 61-66.
- Negahban, M., Moharramipour, S., Hashemi, S. A. & Zandi, M.** (2012) Efficiency of nanoencapsulated essential oil of *Artemisia sieberi* on nutritional indices of *Plutella xylostella*. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* (in press). [In Persian with English summary].
- Pillmoor, J. B., Wright, K. & Terry, A. S.** (1993) Natural products as a source of agrochemicals and leads for chemical synthesis. *Pesticide science* 39, 131-140.
- Reddy, G., Tabone, E. & Smith, M.** (2004) Mediation of host selection and oviposition behavior in the diamondback moth *Plutella xylostella* and its predator *Chrysoperla carnea* by chemical cues from cole crops. *Biological Control* 29, 270-277.
- Sahaf, B. Z. & Moharramipour, S.** (2008) Fumigant toxicity of *Carum copticum* and *Vitex pseudo-negundo* essential oils against eggs, larvae and adults of *Callosobruchus maculatus*. *Journal of Pest Science* 81, 213-220.
- Sahaf, B. Z. & Moharramipour, S.** (2009) Comparative study on deterrence of *Carum copticum* C. B. Clarke and *Vitex pseudo-negundo* (Hauuskn) Hand.-Mzt. essential oils on feeding behavior of *Tribolium castaneum* (Herbst). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 24, 385-395. [In Persian with English summary].
- Sahaf, B. Z., Moharramipour, S. & Meshkatsadat, M. H.** (2007) Chemical constituents and fumigant toxicity of essential oil from *Carum copticum* against two stored product beetles. *Insect Science* 14, 213-218.
- Sahaf, B. Z., Moharramipour, S., Meshkatsadat, M. H. & 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.
- Sanna Passino, G., Moretti, M. & Bazzoni, E.** (2004) Microencapsulated essential oils active against indianmeal moth. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas* 30, 125-132.
- Shojaaddini, M., Moharramipour, S. & Sahaf, B. Z.** (2008) Fumigant toxicity of essential oil from *Carum copticum* against indian meal moth, *Plodia interpunctella*. *Journal of Plant Protection Research* 48, 411-419.
- Talekar, N. & Shelton, A.** (1993) Biology, ecology, and management of the diamondback moth. *Annual Review of Entomology* 38, 275-301.
- Waldbauer, G.** (1968) The consumption and utilization of food by insects. *Advances in Insect Physiology* 5, 229-288.
- Yi, C. G., Kwonl, M., Hieu, T. T., Jang, Y. S. & 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, 157-163.