نامه انجمن حشره‌شناسی ایران
۱۳۹۳ – ۳۴(۴): ۳۷-۵۱

کارآیی اسانس اسطوخودوس، *Lavandula angustifolia*، در مرگ‌ومیر و شاخص‌های فیزیولـوژیکی شب‌پره پشت‌الماسی، *Plutella xylustella* (Lep.: Pyralidae)

مهسا نصر اصفهانی[۱]، جلال جلالی سندی[۱و*]، سعید محرمی‌پور[۲] و آرش زیبایی[۱]

۱- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ۲- گروه حشره‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران.

*مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: jjalali@guilan.ac.ir

Efficacy of essential oil of *Lavandula angustifolia* on mortality and physiological parameters of diamondback moth, *Plutella xylustella* (Lep.: Pyralidae)

M. Nasr[1], J. Jalali Sendi[1&*], S. Moharramipour[2] and A. Zibaee[1]

1. Department of Plant protection, Faculty of Agricultural Science, University of Guilan, Rasht, Iran, 2. Department of Entomology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

*Corresponding author, E-mail: jjalali@guilan.ac.ir

چکیده

کارآیی اسانس گیاه اسطوخودوس، *Lavandula angustifolia*، روی شب‌پره پشت‌الماسی، *Plutella xylustella* L.، تحت شرایط کنترل‌شده آزمایشگاهی (۲ ± ۲٤ درجه سلسیوس، ٥ ± ۷٥ درصد رطوبت و ١٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) مورد ارزیابی قرار گرفت. میزان LC_{10}، LC_{30} و LC_{50} برای اسانس به‌ترتیب ۰/۰۸۵۷، ۰/۲۷۰ و ۰/۵۹۹ (درصد حجم/حجم) به‌دست آمد. اثر دورکنندگی با غلظت‌های زیرکشنده LC_{10} و LC_{30} اسطوخودوس روی لارو سن سوم شب‌پره به‌ترتیب ۳/٦۱ ± ۱۹/۲ و ٤/۸۷ ± ۳٤/۲۹ درصد محاسبه شد. شاخص مصرف، کارایی تبدیل غذای خورده‌شده، کارایی تبدیل غذای هضم‌شده، قابلیت هضم نسبی و نرخ رشد نسبی در لاروهای تیمارشده در مدت سه روز بررسی و تفاوت معنی‌داری با شاهد مشاهده شد. همچنین، تأثیر اسانس‌های گیاهی روی میزان آنزیم‌های گوارشی، پروتئین کل، تری‌گلیسیرید، آلکالین فسفاتاز، پروتئاز، لیپاز، آلفا آمیلاز، گلوتاتیون اس ترانسفراز و استراز در لاروهای تیمارشده، اختلاف معنی‌داری را با شاهد نشان داد. نتایج حاضر بیانگر پتانسیل مناسب گیاه اسطوخودوس به‌عنوان یک حشره‌کش با منشأ گیاهی است.

واژگان کلیدی: اسطوخودوس، اسانس، شب‌پره پشت‌الماسی، سمیت، شاخص‌های فیزیولوژیکی

Abstract

Efficacy of the essential oil of the plant species *Lavandula angustifolia* on the mortality, physiology and biochemistry of diamondback moth, *Plutella xylustella* L., was studied under laboratory conditions (24 ± 2ºC, 75 ± 5% R.H. and 16 L: 8 D hours). The LC_{10}, LC_{30} and LC_{50} values of the essential oil were estimated as 0.0857%, 0.270% and 0.599% (V/V), respectively. The repellency effect for the LC_{10} and LC_{30} concentrations on third instar larvae were 19.2 ± 3.61 and 34.29 ± 4.87, respectively. The approximate digestibility (AD), efficiency of conversion of ingested food (ECI), efficiency of conversion of digested food (ECD), relative growth rate (RGR) and relative consumption rate (RCR) for the treated larvae in three days showed significant differences compared with the controls. The effectiveness of plant essential oils on digestive enzymes, total protein, triglycerides, alkaline phosphatase, protease, lipase, alfa amylase, glutathione S-transferase and esterase were also significantly different. Our finding suggests that the essential oil of *L. angustifolia* can be efficiently used as a botanical insecticide.

Key words: *Lavandula angustifolia*, essential oil, diamond back moth, toxicity, physiological indices

مقدمه

شب‌پره پشت‌الماسی، *Plutella xylustella* L.، از شایع‌ترین و مضرترین آفات گیاهان چلیپاییان در بیش‌تر کشورهای جهان است (Talekar & Shelton, 1993). شب‌پره پشت‌الماسی دارای چند نسل بوده و به‌طور معمول در مناطق گرمسیر فاقد دیاپوز است، به‌طوری‌که می‌تواند تا ۱۲ نسل داشته باشد (Rivnay, 1962). طغیان این آفت در جنوب آسیا تا ۹۰ درصد خسارت محصول را باعث شد (Verkerk & Wright, 1996). شب‌پره پشت‌الماسی اولین آفت گیاهی بود که به DDT در سال ۱۹۵۳ در اندونزیا و جاوا مقاوم شد (Ankersmit, 1953). این گونه به دلیل توانایی بالای تولید مثل، توانایی بالایی در مقاومت به آفت‌کش‌ها دارد (Shelton *et al*., 1993) و اکنون در بسیاری از مناطق کشت چلیپاییان مقاومت

دریافت: ۱۳۹۳/۱/۲۸، پذیرش: ۱۳۹۳/۱۱/۲۰.

قابل توجهی به بسیاری از آفت‌کش‌ها مثل اسپینوساد، آورمکتین، نئونیکوتینوئیدها، پیروزول‌ها و اکسادین‌ها دارد (Sarfraz *et al.*, 2005, 2007). در مورد کنترل با باکتری *Bacillus thuringiensis* نیز در بسیاری از قسمت‌های جهان مقاومت این آفت گزارش شده است (Tabashnik, 1994). بنابراین، جایگزین روش‌های جدید برای کنترل این آفت ضروری است. اسانس‌های گیاهی منابع مناسبی برای کنترل موفق آفات می‌باشند، زیرا برای محصول هدف انتخابی هستند و اثرات نامناسبی روی محیط ندارند (Singh & Upadhyay, 1993; Isman, 2000, 2006). در قرن حاضر توجه سازمان‌های جهانی به محدود کردن استفاده از سموم شیمیایی و جایگزین کردن آن‌ها با سموم کم‌خطر معطوف شده است و استفاده از سمومی که قبل از سال ۱۹۸۰ تولید شده را ممنوع اعلام کرده‌اند. منابع علمی ۲۵ سال اخیر، معرفی‌کننده صدها ترکیب متابولیت ثانویه گیاهی است که دارای فعالیت‌های بازدارندگی تغذیه و یا سایر اثرات سمی روی حشرات آفت در محیط آزمایشگاه هستند (Koul & Dhaliwal, 2001; Regnault-Roger *et al.*, 2005). اسطوخودوس، *Lavandula angustifolia*، درختچه‌ای چندساله از خانواده نعناییان است که در درجه اول برای تهیه اسانس از گل‌های معطر آن کشت می‌شود، اگرچه گل‌های تازه و خشک آن تجاری نیز شده است (Renaud *et al.*, 2001). اسانس اسطوخودوس دارای کاربردهای گسترده در عطرسازی و صنایع آرایشی است و دارای خواص آرامش‌بخش، ضد نفخ، ضد افسردگی و ضد التهابی می‌باشد (Cavanagh & Wilkinson, 2005). در بررسی Verma *et al.* (2010)، اسانس روغنی اسطوخودوس در منطقه اوتراکهند هند مورد تجزیه تحلیل قرار گرفت که شامل ۳۷ ترکیب بود که ۹۷/۸۱٪ روغن را تشکیل می‌داد. اجزای اصلی شامل استات لینالیل (۴۷/۶۵٪)، لینالول (۲۸/۰۶٪)، لاوندولیل استات (۴/۳۴٪) و آلفا ترپینیل (۳/۷۵٪) بود.

Manzoomi *et al.* (2010) کشندگی اسانس‌های *Lavandula officinalis* و *Artemisia dracunculus* را روی حشرات بالغ سوسک *Callosobruchus maculatus* (F.) در انبار بررسی و اثرات موفق این اسانس‌ها را کنترل این آفت گزارش کردند. اثرات کنه‌کشی اسانس‌های *Foeniculum vulgare*، *L. officinalis* و *Laurus nobilis* روی کنه *Varroa destructor* Anderson & Trueman، مهم‌ترین پارازیت در کلنی زنبور عسل، بررسی شد و اسانس اسطوخودوس در فصل بهار بالاترین درصد کنترل را نشان داد (Figen *et al.*, 2012). در کنترل مگس خانگی نیز اسانس‌های *Mentha piperita* و *L. angustifolia* پتانسیل خوبی را نشان دادند (Bosly, 2013). تأثیر اسانس اسطوخودوس روی لارو سن اول کرم سیب، *Cydia pomonella* L.، نیز مورد بررسی قرار گرفته است (Peter *et al.*, 1999).

مواد و روش‌ها

تهیه اسانس گیاه اسطوخودوس

برگ گیاه مورد نظر از گلکده مارانتا (رامسر) تهیه شد. این گیاه در زمان قبل از گل‌دهی جمع‌آوری و با آب شسته شده و پس از خشکاندن در شرایط سایه، توسط آسیاب برقی آسیاب شد. جهت اسانس‌گیری از دستگاه اسانس‌گیری (کلونجر) استفاده شد. این دستگاه با تقطیر جزءبه‌جزء، اسانس روغنی را از گیاه جدا می‌کند. هر بار، ۵۰ گرم از پودر گیاه مورد نظر در ۷۵۰ سی‌سی آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت خیسانده شده و سپس به بالون دستگاه کلونجر منتقل شد. فاز روغنی حاصل جدا شده و برای آب‌گیری اسانس روغنی به‌دست آمده، از سولفات سدیم استفاده شد. اسانس

تهیه‌شده، در شیشه‌های رنگی و در یخچال (٤+ درجه) نگه‌داری شد.

آزمایش‌های زیست سنجی

برای انجام این پژوهش، لاروهای سنین مختلف از مزارع کلزای اطراف کرج جمع‌آوری شدند و در شرایط آزمایشگاهی در دمای ۲ ± ۲٤ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ٥ ± ۷٥ درصد و ۸ ساعت تاریکی و ١٦ ساعت روشنایی روی کلزا، رقم اپرا، در ظروف مخصوص مستطیلی در ابعاد ۱٥ × ۱۰ سانتی‌متر پرورش یافتند. برای پرورش حشرات کامل، از ظروف استوانه‌ای به ابعاد ۲۰ × ۱۸ سانتی‌متر استفاده شد. پس از پرورش یک نسل، از لاروهای سن سوم (مرحله خسارت‌زای آفت) و هم‌سن نسل بعد، برای انجام آزمایش‌های مختلف استفاده شد.

دیسک‌های برگی کلزا (به قطر ٦ سانتی‌متر) تحت تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس اسطوخودوس تیمار و در اختیار لاروهای سن سوم قرار داده شد. محدوده غلظت‌ها با آزمون‌های مقدماتی (bracketing) مشخص شدند؛ بالاترین و پایین‌ترین غلظت مؤثر تعیین و با استفاده از فاصله لگاریتمی، غلظت‌های حدواسط انتخاب شدند. سپس آزمون نهایی برای تعیین LC_{50} در چهار تکرار و هر تکرار با ۱۰ عدد لارو سن سوم با طول عمر کم‌تر از ۲٤ ساعت انجام شد. اسانس مورد نظر در غلظت‌های ۰/۳، ۰/٦، ۱/۳، ۲/۸، ٦ درصد در متانول حل شده و سپس هریک از دیسک‌های برگ کلزا به مدت ۱۰ ثانیه در محلول غوطه‌ور شدند و پس از خشک‌شدن در دمای اطاق به مدت ۳۰ دقیقه، به داخل پتری منتقل شدند. جهت جلوگیری از کاهش و از دست رفتن رطوبت برگ، و همچنین فرار لاروها، در پتری با توری مسدود شد. در تمام آزمایش‌ها از شاهد که فقط با متانول تیمار شده بود، استفاده شد. پس از شروع آزمایش، هر ۲٤ ساعت یک‌بار میزان تلفات یادداشت‌برداری شد و آزمایش تا ۷۲ ساعت ادامه یافت.

بررسی تأثیر اسانس برگ اسطوخودوس روی شاخص‌های تغذیه‌ای شب‌پره پشت‌الماسی

جهت ارزیابی اثر اسانس روی شاخص‌های تغذیه‌ای، غلظت‌های زیرکشنده LC_{30} و LC_{50} مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت تعیین وزن لاروها، غذای باقی‌مانده و فضولات از ترازوی حساس با دقت ۰/۱ میلی‌گرم استفاده شد. آزمایش‌ها در چهار تکرار و هر تکرار با ۱۰ عدد لارو سن چهارم (آخرین مرحله لاروی) تازه ظاهرشده (کم‌تر از ۲٤ ساعت) که به مدت چهار ساعت گرسنه نگه داشته شده بودند، انجام شد. هر غلظت شامل یک شاهد تیمارشده با متانول بود. دیسک‌های برگی به قطر هشت سانتی‌متر داخل غلظت‌های مورد نظر به مدت ۲۰ ثانیه غوطه‌ور و وزن اولیه آن‌ها یادداشت شد. سپس لاروها وزن شدند و به آن‌ها اجازه داده شد تا از برگ‌های تیمارشده با اسانس تغذیه کنند. پس از گذشت ۲٤ ساعت، برگ‌های باقی‌مانده خارج و با برگ‌های تازهٔ تیمارشده جایگزین شدند. در انتهای هر روز، برگ‌های باقی‌مانده وزن و در آون در دمای ٦۰ درجه سلسیوس به مدت ٤۸ ساعت خشک و دوباره وزن شدند تا بتوان به این طریق وزن خشک غذای مصرف‌شده را به‌دست آورد. فضولات تولیدشده در انتهای هر روز جمع‌آوری، و پس از خشک شدن در آون، وزن شدند. لاروها در انتهای آزمایش توزین و تلفات آن‌ها نیز یادداشت شد. در انتهای آزمایش، پس از خشک کردن لاروها در آون، توزین دوباره آن‌ها انجام شد تا وزن خشک لاروها تعیین شود. آزمایش به مدت ۳ روز ادامه یافت و مشاهدات در انتهای هر روز یادداشت شد.

برای تعیین شاخص‌های تغذیه‌ای از فرمول های ارئه‌شده توسط Waldbauer (1968) استفاده شد:

– قابلیت هضم نسبی [1](AD):

$AD = [(W_i - W_f) / W_i] \times 100$، در این رابطه، W_i وزن خشک غذای خورده‌شده به‌ازای هر لارو پس از زمان t و W_f وزن خشک فضولات تولیدشده (هر دو بر حسب میلی‌گرم) می‌باشد.

– کارآیی تبدیل غذای خورده‌شده [2](ECI):

$ECI = [(W_t - W_o) / W_i] \times 100$، در این رابطه، W_o وزن خشک اولیه حشره قبل از تغذیه و W_t وزن خشک حشره پس از تغذیه از رژیم غذایی در مدت T_t (هر دو بر حسب میلی‌گرم) می‌باشد.

– کارآیی تبدیل غذای هضم‌شده [3](ECD):

$ECD = [(W_t - W_o) / (W_i - W_f)] \times 100$

– نرخ مصرف نسبی [4](RCR):

$RCR = W_i / (T_t \times W_o)$، در این رابطه، T_t زمان تغذیه حشره از غذا بر حسب روز می‌باشد.

– نرخ رشد نسبی [5](RGR):

$RGR = (W_t - W_o) / (T_t \times W_o)$

[1] Approximate digestibility
[2] Efficacy of conversion of ingested food
[3] Efficacy of conversion of digested food
[4] Relative consumption rate
[5] Relative growth rate

بررسی فعالیت دورکنندگی اسانس‌های گیاهی

برای بررسی اثر دورکنندگی اسانس اسطوخودوس از روش Smith *et al*. (1994) با اندکی تغییر استفاده شد. در دو سمت ظرف پلاستیکی مکعبی‌شکل درپوش‌دار به حجم ۶۵ میلی‌متر سوراخی تعبیه شد و هر سوراخ با کمک یک لوله پلاستیکی به قطر سه میلی‌متر و طول دو سانتی‌متر به ظرف پلاستیکی دیگر با همان ابعاد متصل شد، به طوری‌که حرکت لاروها از ظرف میانی به ظروف جانبی از طریق لوله‌های رابط به سهولت امکان‌پذیر بود. برای بررسی فعالیت دورکنندگی اسانس مورد نظر روی لاروهای سن سوم (مرحله پرخسارت شب‌پره) دو غلظت زیرکشنده LC_{10} و LC_{30} اسانس انتخاب شد. در دو ظرف طرفین ظرف وسط دیسک‌های برگی به قطر شش سانتی‌متر از کلزا گذاشته شد. در ظرف شاهد، برگ فقط با یک میلی‌لیتر متانول و در ظروف تیمار، برگ با دو غلظت LC_{10} و LC_{30} اسانس‌های مورد نظر آغشته شده بود. این آزمایش در پنج تکرار انجام شد و در هر تکرار تعداد ۱۰ عدد لارو سن سوم که به مدت چهار ساعت گرسنه نگه‌داری شده بودند، در ظرف میانی رها شدند. پس از ۲۴ ساعت، تعداد حشرات در هر ظرف شمارش و درصد دورکنندگی فرمولاسیون اسانس طبق فرمول زیر محاسبه شد (Liu *et al*., 2006):

$Repellency\ (\%) = (C - E) / T) \times 100$، در این رابطه، C تعداد لارو در ظرف شاهد، E تعداد لارو در ظرف تیمار و T تعداد کل لارو می‌باشد.

آماده‌سازی نمونه‌ها جهت بررسی تأثیر اسانس‌های گیاهی روی برخی از ترکیبات بیوشیمیایی

انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی جهت بررسی علل فیزیولوژیک در لاروهای تیمارشده با اسانس انجام شد. برای این منظور، از لاروهای سن سوم شب‌پره پشت‌الماسی که به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت از برگ‌های تیمارشده با غلظت LC_{50} اسانس مورد نظر تغذیه کرده بودند، استفاده شد. به دلیل کوچکی اندازه لاروها، از کل بدن برای استخراج آنزیم‌ها استفاده شد. به این صورت که کل بدن لارو تیمارشده، پس از هموژنایز شدن با استفاده از هموژنایزر دستی، در ۱۳۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه در دمای چهار درجه سلسیوس

سانتریفیوژ شد و بخش رونشین حاصل مورد استفاده قرار گرفت.

اندازه گیری میزان پروتئین کل و تری گلیسرید - جهت اندازه‌گیری پروتئین کل از روش Lowry *et al.* (1951) استفاده شد. اندازه‌گیری تری‌گلیسیرید با استفاده از کیت بیوکم ایران و مطابق با روش Fossati & Prencipe (1982) انجام شد. مقدار ۱۰۰ میکرولیتر معرف موجود در کیت و ۲۰ میکرولیتر از محلول رونشین حاصل از سانتریفیوژ در پلیت الیزا ریخته شد و ۲۰ دقیقه بعد از انکوبه شدن، در طول موج ٥٤٥ نانومتر قرائت شد. برای بلانک، به‌جای نمونه از ۲۰ میکرولیتر آب مقطر استفاده شد. چربی کل با استفاده از منحنی استاندارد تری‌گلیسیرید تعیین شد.

اندازه گیری فعالیت آلفا آمیلاز - برای اندازه‌گیری میزان آلفا آمیلاز از روش Bernfeld (1955) استفاده شد. مقدار ٤٠ میکرولیتر بافر فسفات و ۱۵ میکرولیتر نشاسته یک درصد به‌عنوان سوبسترای آمیلاز مورد استفاده قرار گرفت و پس از اضافه شدن ۱۰ میکرولیتر نمونه، به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۵ درجه سلسیوس انکوبه شد. سپس، با افزودن ٦٠ میکرولیتر معرف رنگی DNS و جوشاندن به مدت ۱۰ دقیقه، در طول موج ٥٤٠ نانومتر خوانده شد.

اندازه‌گیری فعالیت پروتئاز - برای اندازه‌گیری میزان پروتئاز از روش Cohen (1993) استفاده شد. مقدار ۸۰ میکرولیتر از بافر فسفات، ٤٠ میکرولیتر از سوبسترای هموگلوبین و۲۰ میکرولیتر از نمونه در پلیت ریخته و به مدت ۱۲۰ دقیقه انکوبه شد. سپس، با اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر TCA (تری‌کلرواستیک‌اسید) ٪۳۰ و سانتریفیوژ کردن به مدت ۵ دقیقه در ۱۳۰۰۰ دور، میزان جذب (OD) در طول موج ۳٤۰ نانومتر خوانده شد.

اندازه‌گیری فعالیت لیپاز - برای اندازه‌گیری میزان لیپاز از روش Tsujita *et al.* (1989) استفاده شد. برای این منظور، مقدار ٤٠ میکرولیتر بافر فسفات و ۱۰ میکرولیتر p-nitrophenyl butyrate به‌عنوان سوبسترای لیپاز مورد استفاده قرار گرفت و پس از اضافه شدن ۱۰ میکرولیتر نمونه، به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه شد. سپس، ٦٠ میکرولیتر NaOH اضافه و در طول موج‌های ٤٠٥، ٤٥٠ و ٤٩٢ خوانده و ثبت شد.

اندازه‌گیری فعالیت آلکالین فسفاتاز - برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز از روش ارائه شده توسط Bessey *et al.* (1946) استفاده شد. مقدار ۵۰ میکرولیتر بافر فسفات با اسیدیته ۸ همراه با ۳۰ میکرو لیتر از آنزیم p-nitrophenyl phosphate به‌عنوان سوبسترا مورد استفاده قرار گرفت و ۱۵ میکرولیتر از نمونه به آن اضافه و در طول موج ٤٠٥ نانومتر قرائت شد.

اندازه‌گیری فعالیت استراز - برای اندازه‌گیری میزان فعالیت استراز از روش Han *et al.* (1995) استفاده شد. مقدار ۵۰ میکرولیتر آلفا نفتیل استات یا بتا نفتیل استات و ۵۰ میکرولیتر آر. آر. سالت بلو در پلیت الیزا ریخته و به میزان ۲۰ میکرولیتر از نمونه اضافه شد. میزان جذب در ٤٥٠ نانومتر به مدت یک دقیقه هر ۱۰ ثانیه یک‌بار خوانده شد.

اندازه‌گیری فعالیت گلوتاتیون اس ترانسفراز - برای اندازه‌گیری میزان فعالیت گلوتاتیون اس ترانسفراز از روش Oppenorth (1979) استفاده شد. مقدار ۱۰ میکرولیتر گلوتاتیون احیاشده و ۲۰ میکرولیتر CDNB

در پلیت الیزا ریخته و ۴۰ میکرولیتر از نمونه به آن اضافه شد. میزان جذب در طول موج ۳۴۰ نانومتر به مدت یک دقیقه به فاصله هر ۱۰ ثانیه یک‌بار قرائت شد.

تجزیه آماری

آنالیز داده‌های حاصل از آزمون زیست‌سنجی با استفاده از نرم‌افزار POLO-PC (Leora Software, 1987) که به‌طور خودکار فرض موازی بودن و معادل بودن خطوط رگرسیون را آزمون می‌کند، انجام و میزان LC_{50} مشخص شد. تجزیه تحلیل حاصل از این سری آزمون‌ها برای دست‌یابی به حداقل اختلاف معنی‌دار در داده‌های مربوطه، به روش طرح کاملاً تصادفی با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای توکی در سطح ۵٪ با نرم‌افزار SAS انجام شد. داده‌ها قبل از ورود به نرم‌افزار SAS، با استفاده از نرم‌افزار Excel مرتب شدند.

نتایج

سمیت حاد اسانس اسطوخودوس روی شب‌پره پشت‌الماسی

سمیت حاد اسانس اسطوخودوس روی لارو سن سوم شب‌پره پشت‌الماسی در جدول ۱ نشان داده شده است. میزان LC_{50} برای اسانس اسطوخودوس برابر با ۰/۵۹۹ (۰/۳۹۶–۰/۸۱۱) درصد حجم/حجم پس از گذشت ۷۲ ساعت به‌دست آمد.

تأثیر اسانس اسطوخودوس روی دورکنندگی

نتایج تجزیه واریانس حاصل از اثر دورکنندگی اسانس روی لارو سن سوم شب‌پره پشت‌الماسی نشان داد که درصد دورکنندگی اسانس اسطوخودوس در غلظت‌های LC_{30} و LC_{10} در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری داشت ($F = ۶/۱۷$ ،$df = ۱, ۹$ ،$P < ۰/۰۳۷$) (جدول ۲).

ارزیابی تأثیر اسانس اسطوخودوس روی شاخص کارآیی تغذیه در لارو سن چهارم شب‌پره پشت‌الماسی

در بررسی تأثیر حاصل از اسانس گیاهی مورد نظر روی کارایی تغذیه لاروهای سن چهارم شب‌پره پشت‌الماسی (جدول ۳)، شاخص‌های تغذیه‌ای ECI، RGR و ECD کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان دادند (به‌ترتیب $P < ۰/۰۱۱$ ،$df = ۲, ۱۱$ ،$F = ۷/۵۷$؛ $P < ۰/۰۲۴$ ،$df = ۲, ۱۱$ ،$F = ۵/۷۳$؛ و $P < ۰/۰۱۷$ ،$df = ۲, ۱۱$ ،$F = ۶/۶۳$). در تیمار اسانس، افزایش میزان هضم نسبی مشاهده شد ولی معنی‌دار نبود. تفاوت مشاهده‌شده در مقایسه غلظت به‌کار رفته برای تیمار اسانس نیز معنی‌دار نبود.

تأثیر اسانس گیاهی مورد نظر بر ویژگی‌های بیوشیمیایی لاروهای شب‌پره پشت‌الماسی

اسانس گیاه اسطوخودوس در غلظت LC_{50}، ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تیمار (جدول‌های ۴ و ۵)، تأثیر معنی‌داری روی میزان آنزیم‌های گوارشی و غیرگوارشی لاروهای تیمارشده داشت، به‌طوری‌که در مقایسه با شاهد، کاهش معنی‌داری در میزان لیپاز، آلکالین فسفاتاز و گلوتاتیون اس ترانسفراز، ۲۴ ساعت بعد از تیمار مشاهده شد (به‌ترتیب $P < ۰/۰۰۱$ ،$df = ۱, ۵$ ،$F = ۷/۹۳$؛ $P < ۰/۰۲۷$ ،$df = ۱, ۵$ ،$F = ۱۱/۵۸$؛ و $P < ۰/۰۰۲$ ،$df = ۱, ۵$ ،$F = ۴۶/۳۸$). در مورد سایر آنزیم‌های گوارشی، تفاوت نسبت به شاهد مشاهده شد ولی معنی‌دار نبود. میزان تری‌گلیسیرید، آلفا آمیلاز، آلکالین فسفاتاز، استراز و گلوتاتیون اس ترانسفراز، ۴۸ ساعت بعد از تیمار کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد داشت (به‌ترتیب $P < ۰/۰۱۸$ ،$df = ۱, ۵$ ،$F = ۱۴/۷۰$؛ $P < ۰/۰۰۰۵$ ،$df = ۱, ۵$ ،$F = ۱۰۱/۳۰$؛ $P < ۰/۰۰۰۶$ ،$df = ۱, ۵$ ،$F = ۹۷/۸۰$؛ $P < ۰/۰۰۰۱$ ،$df = ۱, ۵$ ،$F = ۹۳۷/۵۰$؛ و $P < ۰/۰۰۰۱$ ،$df = ۱, ۵$ ،$F = ۳۸۴/۶۲$).

جدول ۱- مقادیر تخمینی LC_{10}، LC_{30} و LC_{50} اسانس اسطوخودوس روی لارو سن سوم شب‌پره پشت‌الماسی.

Table 1. Estimated LC_{10}, LC_{30} and LC_{50} of lavender essential oil on 3rd instar larvae of diamond back moth.

Essential oil	LC_{10} (%) confidence limit 95%	LC_{30} (%) confidence limit 95%	LC_{50} (%) confidence limit 95%
Lavandula angustifolia	0.0857 (0.0265-0.1626)	0.270 (0.1567-0.3849)	0.599 (0.3966-0.8112)

جدول ۲- میانگین درصد دورکنندگی (± انحراف معیار) اسانس اسطوخودوس روی لارو سن سوم شب‌پره پشت‌الماسی.

Table 2. The mean percentage repellency (± standard error) of lavender essential oil on 3rd instar larvae of diamond back moth.

Concentration	*Lavandula angustifolia*	P-value
$\%LC_{10}$	19.2 ± 3.61 b	0.037
$\%LC_{30}$	34.29 ± 4.87 a	

جدول ۳- تأثیر اسانس اسطوخودوس روی شاخص‌های تغذیه‌ای لارو سن چهارم شب‌پره پشت‌الماسی.

Table 3. The effect of lavender essential oil on feeding indices of 4th instar larvae of diamond back moth.

Essential oil (%)	AD* (%)	ECD* (%)	ECI* (%)	RCR* (mg/mg/insect)	RGR* (mg/mg/insect)
Control	51.74 ± 4.34 a	17.36 ± 2.95 a	8.51 ± 0.93 a	32.73 ± 1.39 a	2.83 ± 0.40 a
LC_{10}	54.51 ± 4.31 a	10.44 ± 1.60 b	5.58 ± 0.70 b	31.82 ± 1.04 a	1.77 ± 0.21 b
LC_{30}	63.16 ± 3.54 a	9.53 ± 0.84 b	5.97 ± 0.327 b	31.19 ± 2.011 a	1.86 ± 0.181 b

Within columns, means followed by the same letter do not differ significantly ($P > 0.05$).
* See text for abbreviation.

جدول ٤- تأثیر غلظت LC_{50} اسانس اسطوخودوس روی بعضی ترکیبات بیوشیمیایی روی لارو سن سوم شب‌پره پشت‌الماسی (٢٤ ساعت بعد از تیمار).

Table 4. Effects of lavender essential oil under the LC_{50} concentration on some biochemical compounds of 3rd instar larvae of diamond back (24 h after treatment).

Essential oil	Protein (od/min)	Triglyceride (mg/ml)	α-amylase (*)	Lipase (**)	Protease (od/min)	AP[1] (*)	GST[2] (*)	Esterase (*)
Control	49.12 ± 1.63[a]	1.29 ± 0.15[a]	2.15 ± 0.03[a]	0.239 ± 0.002[a]	35.32 ± 3.01[a]	2.24 ± 0.36[a]	4.44 ± 0.021[a]	57.08 ± 0.76[a]
Lavender	48.35 ± 1.64[a]	0.94 ± 0.03[a]	1.04 ± 0.4[a]	0.152 ± 0.002[b]	18.95 ± 4.06[a]	1.24 ± 0.04[b]	2.47 ± 0.021[b]	56.04 ± 1.27[a]

Means with similar letters in each column are not significantly different (Tukey, $P < 0.05$).
[1] Alkaline phosphatase; [2] Glutathione S-transferase.
* µmol/min/mg protein; ** nmol/min/mg protein.

جدول ۵- تأثیر غلظت LC_{50} اسانس اسطوخودوس روی بعضی ترکیبات بیوشیمیایی روی لارو سن سوم شب‌پره پشت‌الماسی (٤٨ ساعت بعد از تیمار).

Table 4. Effects of lavender essential oil under the LC_{50} concentration on some biochemical compounds of 3rd instar larvae of diamond back (48 h after treatment).

Essential oil	Protein (od/min)	Triglyceride (mg/ml)	α-amylase (*)	Lipase (**)	Protease (od/min)	AP[1] (*)	GST[2] (*)	Esterase (*)
Control	62.59 ± 2.81[a]	1.28 ± 0.028[a]	2.91 ± 0.15[a]	0.148 ± 0.012[a]	27.32 ± 2.86[a]	3.97 ± 0.21[a]	15.53 ± 0.106[a]	41.87 ± 0.51[a]
Lavender	57.24 ± 3.11[a]	0.94 ± 0.03[b]	0.404 ± 0.18[b]	0.137 ± 0.01[a]	13.66 ± 5.42[a]	0.984 ± 0.19[b]	6.85 ± 0.31[b]	10.62 ± 0.51[b]

Means with similar letters in each column are not significantly different (Tukey, $P < 0.05$).
[1] Alkaline phosphatase; [2] Glutathione S-transferase.
* µmol/min/mg protein; ** nmol/min/mg protein.

بحث

در مطالعه حاضر، اثر اسانس اسطوخودوس روی کشندگی شب‌پره پشت‌الماسی بررسی و مشاهده شد که با افزایش غلظت اسانس، کشندگی افزایش یافت. در بررسی تأثیر اسانس‌های روغنی *Hyptis suaveolens* L. و *Hyptis spicigera* Lam. از تیره Lamiaceae روی شپشه *Sitophilus granarius* L. مشخص شد که هر دو اسانس فعالیت حشره‌کشی بالایی داشتند و همه تیمارها بعد از ٢٤ ساعت تلف شدند (Conti *et al*., 2010).

در غلظت‌های بالای اسانس، لارو شب‌پره پشت‌الماسی پس از ٢٤ ساعت قهوه‌ای و سیاه رنگ شد، درحالی‌که در غلظت پایین تغییر رنگ خاصی مشاهده نشد که این نتایج با نتایج تحقیقات Shojaaddini, *et al*. (2008) مطابقت داشت. در آزمایش حاضر، افزایش غلظت اسانس گیاهی باعث افزایش مرگ‌ومیر در جمعیت لاروها شد. تحقیقات Tripathi *et al*. (2000)، Huang *et al*. (2000)، Sahaf *et al*. (2007) و Yazdani *et al*. (2013b) نیز موید این بود که افزایش غلظت اسانس‌های مورد مطالعه، باعث افزایش میزان تلفات افراد می‌شود. در واقع، هدف از انجام زیست‌سنجی رسیدن به برآوردی کمی جهت تعیین مرگ‌ومیر در نیمی از جمعیت مورد مطالعه است که از آن به‌عنوان غلظت LC_{50} یاد می‌شود.

عمده مواد تشکیل‌دهنده اسانس گیاهی به‌عنوان حشره‌کش، مونوترپن‌ها و مقداری سسکوئی‌ترپن‌ها را شامل می‌شود که به علت فراریت بسیار بالا، نقش عمده‌ای در فعالیت‌های تنفسی و حشره‌کشی ایفا می‌کنند (Negahban *et al*., 2007). در مطالعه تأثیر عصاره متانولی *Artemisia annua* L. روی فیزیولوژی تغذیه و فعالیت‌های آنزیمی سوسک برگ‌خوار نارون، *Xanthogaleruca luteola* (Muller)، مشخص شد که میزان دورکنندگی تغذیه برای لارو سن سوم و حشرات بالغ طی ٢٤ ساعت، در غلظت ١٠٪ بیش‌ترین و در غلظت ٠/٦٢٥٪ کم‌ترین بود (Shekari *et al*., 2008). دورکنندگی و شاخص‌های تغذیه کرم برگ‌خوار توت در تیمار *A. annua* توسط Khosravi *et al*. (2010) نیز بررسی شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت عصاره، میزان دورکنندگی افزایش یافت. همچنین، در بررسی Hasheminia *et al*. (2011)، اسانس‌ها روی سمیت، رشد و نمو، شاخص‌های تغذیه‌ای و فعالیت‌های شیمیایی سفیده کوچک کلم تأثیر گذاشتند و کم‌ترین میزان دورکنندگی در غلظت ٠/٦٢٥٪، به‌ترتیب ٢٩/٨٢٦٪ و ٤٤/١٨٥٪ برای *A. annua* و *Artemisia millefolium* L. به‌دست آمد. در بین ٢٧ گونه گیاهی بررسی‌شده نیز، اسطوخودوس بالاترین تأثیر دورکنندگی را داشته و از حرکت لاروهای نئونات به طرف میوه‌های سیب جلوگیری کرده است (Peter *et al*., 1999). بررسی نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که اسانس اسطوخودوس دارای اثرات دورکنندگی روی لارو سن سوم شب‌پره پشت‌الماسی است، بنابراین می‌توان با استفاده از غلظت‌های زیرکشنده اسانس، حشره آفت را دور کرد. بیش‌ترین درصد دورکنندگی در بالاترین غلظت مشاهده شد. این نتایج توسط محققین مختلف نیز گزارش شده است (Owusu, 2001; Wang *et al*., 2006; Yazdani *et al*., 2013b).

با اندازه‌گیری شاخص‌های تغذیه‌ای مورد مطالعه در شب‌پره پشت‌الماسی، مشاهده شد که در مقایسه با شاهد، تمامی شاخص‌ها در غذای تیمارشده کاهش یافتند ولی شاخص AD افزایش یافت. البته در مورد RGR، ECI و ECD در تیمار اسانس اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. شاخص ECI، شاخص مهم برای نشان دادن قابلیت حشره برای استفاده از غذا در ساختن بیوماس می‌باشد (Cohen, 2005). کاهش ECI نشان می‌دهد که بیش‌تر غذا صرف انرژی شده و به توده بدنی تبدیل نشده است. کاهش ECD نیز کاهش تبدیل

غذای خورده‌شده به رشد در حشره را نشان می‌دهد که شاید به دلیل صرف انرژی از توده بدنی برای سم‌زدایی در پاسخ به اثر سمی اسانس گیاهی باشد (Silveira Ramos *et al*., 2009). کاهش RGR در لارو تیمارشده ممکن است به دلیل اثر سمی آللوکمیکال‌ها روی غشای معده و خسارت به سلول‌های سطح معده میانی باشد (Marie *et al*., 2009). افزایش اندک شاخص قابلیت هضم نسبی در لاروهای *Hyblaea puera* Cramer که با غلظت ٤٪ آزادیراختین تیمار شده بودند، توسط Senthil Nathan & Sehoon (2006) نیز گزارش شد. این شاخص در لاروهای تحت تیمار، ٥٦/٩٢٪ و در لاروهای شاهد، ٥٠/١٦٪ بود. Broadway & Duffey (1988) و Huang *et al*. (2004) میزان کارایی تبدیل غذای خورده‌شده و هضم‌شده به بیوماس حشره را به‌شدت وابسته به فعالیت آنزیم‌های معده می‌دانند. در لاروهای سن چهارم *Cnaphalocrocis medinalis* Guenee که از برگ‌های تیمارشده با ترکیبات تری‌ترپن دیسکسیلوم تغذیه کردند، نرخ رشد با افزایش غلظت این ترکیبات به‌شدت کاهش یافت که با کاهش نرخ مصرف غذا نیز همراه بود. این کاهش شاید در نتیجه فعالیت ضد تغذیه‌ای ترپن‌ها باشد که دلیل موجهی برای کاهش عمده در نرخ رشد لاروها نیز محسوب می‌شود. بالا بودن شاخص کارآیی غذای خورده‌شده نیز شاید نشان مطلوبیت گیاه میزبان باشد زیرا این شاخص برای تعیین کیفیت غذا به‌کار می‌رود (Koul *et al*., 2004). کارآیی تبدیل غذای هضم‌شده، مشخص‌کننده بخشی از غذای جذب‌شده است که به بیوماس حشره تبدیل می‌شود. پایین بودن کارآیی تبدیل غذای هضم‌شده می‌تواند به دلیل عدم وجود عناصر غذایی مورد نیاز حشره باشد. قابلیت تقریبی هضم‌شوندگی شاخصی است که برای تخمین سهولت جذب غذا در بدن حشره به‌کار می‌رود. تفاوت در قابلیت تقریبی هضم‌شوندگی ممکن است از تفاوت در عناصر غذایی رژیم‌های مورد تغذیه باشد (Rezaei *et al*., 2006). از نتایج حاصل از تحقیق حاضر می‌توان فهمید که اسانس مورد مطالعه، روی فیزیولوژی معده لاروهای شب‌پره پشت‌الماسی تأثیر گذاشته و باعث تغییر شاخص‌های تغذیه لاروها شده است. تولید آنزیم‌های مرتبط با هضم غذا، با رفتار تغذیه‌ای حشره، یعنی مقدار غذایی که از لوله گوارش عبور می‌کند، ارتباط مستقیمی دارد و به نظر می‌رسد که در نتیجه عدم توازن آنزیم‌ها و کاهش فعالیت آن‌ها جذب غذا کاهش یابد (Chapman, 1998). آنزیم‌های گوارشی حشرات بر حسب رژیم غذایی آن‌ها متفاوتند. لارو بال‌پولک‌داران دارای مجموعه‌ای از آنزیم‌های گوارشی است که به‌وسیله سلول‌های معده میانی ترشح می‌شوند. سطح فعالیت آنزیم در معده میانی لارو بسیار زیاد و در معده عقبی کم می‌باشد (Dow, 1986). آنزیم‌هایی نظیر تریپسین‌آمیلاز، بتاگلوکوزیداز، آمینوپپتیداز و ترهالاز در دستگاه گوارش لاروها فعالیت دارند. همچنین، مقدار کمی آنزیم آمیلاز، مالتاز و اینورتاز توسط غدد لب پایین و غدد آرواره بالا ترشح می‌شوند.

در تحقیق حاضر، مقدار ترکیبات غیر آنزیمی نیز مورد مطالعه قرار گرفت، به‌طوری‌که مقدار پروتئین کل بدن لاروهای تیمارشده با غلظت LC_{50}، ٢٤ و ٤٨ ساعت بعد از تیمار اسانس‌ها کاهش معنی‌داری را نشان داد. در بررسی Hasheminia *et al*. (2011) یک شیب کاهشی در میزان کلسترول در تیمار عصاره گیاهی مشاهده شد. Etebari *et al*. (2005) بیان داشتند که علت کاهش بعضی ترکیبات، مثل کلسترول، به استرس‌های فیزیولوژیک می‌تواند مربوط به قطع در سیستم جذب باشد. علاوه‌براین، ازآنجایی‌که عصاره‌های گیاهی اثرات ضد تغذیه‌ای روی حشرات دارند و در صورت تغذیه نیز در فرآیند هضم و جذب اختلال ایجاد می‌کنند، کاهش پروتئین و چربی طبیعی به‌نظر می‌رسد، چراکه

حشره جهت ادامه فعالیت‌های طبیعی خود از پروتئین و چربی ذخیره‌شده در اجسام چربی استفاده می‌کند. مورد اخیر می‌تواند دلیل شیب کاهش مواد یادشده در نمونه‌های تیمارشده با اسطوخودوس باشد.

با افزایش میزان تغذیه و جذب غذا، فعالیت آلفا آمیلاز در بافت معده افزایش می‌یابد (Hori, 1968; Christopher & Mathavan, 1985). تفاوت فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در مراحل مختلف نشو و نمو را می‌توان به عواملی مانند نوع و میزان تغذیه نسبت داد (Hori, 1973). در تحقیق حاضر، میزان آنزیم ٤٨ ساعت بعد از تیمار، نسبت به ٢٤ ساعت، در شاهد افزایش یافت ولی در تیمار اسانس کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد که با نتایج Shekari *et al*. (2008)، Hasheminia *et al*. (2011) و Yazdani *et al*. (2013a) مطابقت داشت. لیپازها آنزیم‌هایی هستند که در هیدرولیز پیوندهای خارجی ملکول‌های چربی و نیز، در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی، مثل رشد، تولید مثل و پاتوژن‌های دفاعی، نقشی اساسی دارند. در میزان لیپاز، ٢٤ ساعت بعد از تیمار، کاهش معنی‌داری مشاهده شد که با نتایج حاصل از تحقیقات Hasheminia *et al.* (2011) و Yazdani *et al.* (2013a) مطابقت داشت. Senthil Nathan & Sehoon (2006) نشان دادند که تیمار شب‌پره *C. medinalis* با ترکیبات آزادیراختین و نیم، فعالیت لیپاز در معده میانی را کاهش داد. پروتئازها با هیدرولیز پیوندهای پپتیدی، نقش اساسی در هضم غذا در حشرات و تبدیل آن‌ها به اسیدهای آمینهٔ مربوطه دارند (Terra & Ferriera, 2005). در تحقیق حاضر مشاهده شد که میزان فعالیت آنزیم پروتئاز در لاروهای تیمارشده با اسانس اسطوخودوس، ٢٤ و ٤٨ ساعت بعد از تیمار کاهش یافت. ترکیبات گیاهی ممکن است از تولید نوع خاصی از پروتئازها ممانعت کرده و در نتیجه نتوانند پروتئین‌های خورده‌شده را هضم کنند (Senthil Nathan *et al*., 2008; Zibaee & Bandani, 2010). علت کاهش فعالیت آنزیم می‌تواند ترکیبات دفاعی گیاهان نیز باشد که هیدرولیز آنزیم‌های آلفا آمیلاز و پروتئاز در حشرات را سبب می‌شوند (Franco *et al*., 2002). علاوه‌براین، گیاهان غنی از بازدارنده‌های آمیلازی و پروتئازی هستند؛ بنابراین ورود آن‌ها به معده سبب مهار آنزیمی و حتی مرگ سلول‌های اپیتلیومی می‌شود که مسئول سنتز این آنزیم‌ها می‌باشند. در مورد آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز، افزایش فعالیت آن‌ها می‌تواند نشان‌دهنده نوعی مهار برگشت‌پذیر آنزیمی توسط عصاره گیاهی و یا فعالیت جبرانی سلول‌های معده با ترشح بیش‌تر آنزیم باشد. اما در مورد پروتئاز احتمالاً زمان بیش‌تری برای این منظور نیاز است.

آلکالین فسفاتازها (ALPs) آنزیم‌های هیدرولیزکننده هستند که حذف گروه فسفات را در انواع مولکول‌ها، شامل نئونیکونیدها، پروتئین‌ها و آلکالوئیدها، برعهده دارند. ترکیبات شیمیایی سمی، شاخص‌های تغذیه‌ای و فعالیت ALP را کاهش می‌دهند (Yoshitake *et al*., 1966; Eguchi & Iwamoto, 1975). طبق نتایج تحقیقات Senthil Nathan & Sehoon (2006)، گیاه برنج تیمارشده با عصاره Juss *Melia azedarach*، سطح فعالیت ALP را در شب‌پره *C. medinalis* کاهش داد. همچنین، تغذیه *Spodoptera litura* Fabricius روی *Ricinus communis* L. تیمارشده با آزادیراختین، سبب کاهش میانگین میزان این آنزیم، ٢٤ ساعت بعد از تیمار شد. Shekari *et al*. (2008) کاهش ALP را ٢٤ ساعت و افزایش شدید آن را ٤٨ ساعت بعد از تیمار گزارش کردند، و علت افزایش را درگیر شدن آن در فعالیت سم‌زدایی دانستند. البته در تحقیق حاضر کاهش فعالیت ALP، ٢٤ و ٤٨ ساعت بعد از تیمار مشاهده شد که این کاهش می‌تواند به دلیل رابطه مستقیم فعالیت این آنزیم با کارایی هضم و جذب باشد (Senthil Nathan & Sehoon, 2006).

استراز یکی از مهم‌ترین آنزیم‌های سم‌زداست که هیدرولیز باندهای استریک در ترکیبات شیمیایی را برعهده دارد (Hemingway & Karunatne, 1998). آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز نیز نقش مهمی در مقاومت به حشره‌کش‌ها دارد (Zibaee *et al*., 2009). در تحقیق حاضر، فعالیت استراز و گلوتاتیون اس ترانسفراز در تیمار اسانس کاهش یافت. Zibaee & Bandani (2010) سمیت عصاره *A. annua* روی سن گندم بررسی و مشاهده کردند که استراز و گلوتاتیون اس ترانسفراز، افزایش را ۲٤ ساعت بعد از تیمار عصاره نشان دادند. Ben Jannet *et al*. (2001) بیان می‌کنند که احتمالاً حشره برای سم‌زدایی و افزایش فعالیت آنزیم‌های سم‌زدا انرژی زیادی صرف می‌کند و این مصرف انرژی منجر به کاهش یا افزایش طول دوره زندگی و یا کاهش تولید مثل می‌شود. در لاروهای *Ostrinia furnacalis* Guenee که با فراکسینلون تیمار شده بودند، فعالیت آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز و همچنین استرازهای عمومی تغییر نکرد (Liu *et al*., 2008). فعالیت آنزیم استیل کولین استراز در حشرات بالغ زنجرک قهوه‌ای *Nilaparvata lugens* Stal تیمارشده با غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲۵ و ۰/۵ پی‌پی‌ام آزادیراختین بررسی و مشخص شد که فعالیت این آنزیم با افزایش غلظت آزادیراختین کاهش یافت (Senthil Nathan *et al*., 2008). تغییر در فعالیت آنزیم‌های گوارشی در لاروهای تیمارشده با اسانس گیاهی نشان داد که اسانس ممکن است روی سطح آنزیم‌ها و میزان فعالیت آن‌ها تأثیر داشته باشد.

اسانس گیاه اسطوخودوس دارای اثرات کشندگی و خواص ضد تغذیه‌ای روی شب‌پره پشت‌الماسی است. این نتایج نشان می‌دهد که اسانس مورد استفاده علاوه‌براینکه در غلظت‌های بالا دارای اثرات لاروکشی می‌باشد، در غلظت‌های زیرکشنده نیز می‌تواند منجر به اثر دورکنندگی و کاهش تغذیه شود، و در پی آن کاهش وزن لاروها و به‌وجود آمدن حشرات کامل ضعیف را به‌همراه داشته باشد. همچنین، اثرات برگشت‌ناپذیری روی متابولیسم و آنزیم‌های سم‌زدا خواهد داشت. لذا باتوجه به بررسی حاضر و مطالعات صورت‌گرفته توسط سایر محققین، گیاه دارویی اسطوخودوس گونه گیاهی مناسبی برای بررسی‌های بیشتر در جهت کنترل آفت شب‌پره پشت‌الماسی و حتی سایر آفات کلیدی دیگر می باشد.

منابع

Ankersmit, G. W. (1953) DDT resistance in *Plutella maculipennis* (Curt.) (Lepidoptera) in Java. *Bulletin of Entomological Research* 44, 421-425.

Ben Jannet, H., H-Skhiri, F., Migthri, Z., Simmonds, M. S. J. & Blaney, W. M. (2001) Antifeedant activity of plant extracts and of new natural diglyceride compounds isolated from *Ajuga pseudoiva* leaves against *Spodoptera litturalis* larvae. *Industrial Crops and Products* 14, 213-222.

Bernfeld, P. (1955) Amylases, α and β. *Methods in Enzymology* 1, 149-158.

Bessey, O. A., Lowry O. H. & Brock, M. J. (1946) A method for the rapid determination of alkaline phosphatase with five cubic millimeters of serum. *Journal of Biology Chemistry* 164, 321-329.

Bosly, A. H. (2013) Evaluation of insecticidal activities of *Mentha piperita* and *Lavandula angustifolia* essential oils against house fly, *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). *Journal of Entomology and Nematology* 5(4), 50-54.

Broadway, R. M. & Duffey, S. S. (1988) The effect of plant protein quality on insect digestive physiology and the toxicity of plant proteinase inhibitors. *Journal of Insect Physiology* 34, 1111-1117.

Cavanagh, H. M. & Wilkinson, J. M. (2005) Lavender essential oil: a review. *Australian Infection Control* 10, 35-37.

Chapman, R. F. (1998) *The insects*: *structure and function*. 4th ed. 782 pp. Cambridge University Press, Cambridge.

Christopher, M. S. M. & Mathavan, S. (1985) Regulation of digestive enzyme activity in the larvae of *Catopsilia crocale*. *Jornal of Insect Physiology* 31, 217-221.

Cohen, A. C. (1993) Organization of digestion and preliminary characterization of salivary trypsin-like enzymes in a predaceous heteropteran, *Zelus renardii*. *Journal of Insect Physiology* 39, 823-829.

Cohen, A. C. (2005) *Insect diets*: *science and technology*. 344 pp. CRC Press.

Conti, B., Canale, A., Luigi Cioni, P., Flamini, G. & Rifici, A.(2010) *Hyptis suaveolens* and *Hyptis spicigera* (Lamiaceae) essential oils: qualitative analysis, contact toxicity and repellent activity against *Sitophilus granarius* L. (Col.: Dryophthoridae). *Journal of Pest Science* 84, 219-228.

Dow, J. A. T. (1986) Insect midgut function. *Advances in Insect Physiology* 19, 187-329.

Etebari, K., Mirhoseini, S. Z. & Matindoost, L. (2005) A study on intra specific biodiversity of eight groups of silk worm (*Bombyx mori*) by biochemical markers. *Insect Science* 12, 87-94.

Figen, K., Ahmet, O. G. & Levent, A. (2012) Varroacidal efficacies of essential oils extracted from *Lavandula officinalis*, *Foeniculum vulgare*, and *Laurus nobilisin* naturally infested honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies. *Animal Science* 36(5), 554-559.

Eguchi, M. & Iwamoto, A. (1975) Changes in protease, esrerase and phosphatase in the alimentary canal of the silkworm during metamorphosis. *Insect Biochemistry* 5, 495-507.

Fossati, P. & Prencipe, L. (1982) Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clinical Chemistry* 28(10), 2077-2080.

Franco, O. L., Rigden, D. J., Melo, F. R. & Grossi-de-Sa, M. F. (2002) Plant α-amylase inhibitors and their interaction with insect α-amylase: structure, function and potential for crop production. *European Journal of Biochemistry* 269, 397-412.

Han, Q. P., Zhuang, Z. & Tang, A. (1995) The mechanism of resistance to fenitrothion in *Chilo suppressalis* Walker. *Acta Entomologica Sinica* 38, 266-272.

Hasheminia, S. M., Jalali Sendi, J., Talebi Jahromi, Kh. & Moharramipour, S. (2011) The effects of *Artemisia annua* L. and *Achillea millefolium* L. crude leaf extract on toxicity, development, feeding efficiency and chemical activities of small cabbage *Pieris rapae* L. (Lep.: Pieridae). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 99,244-249.

Hemingway, J. & Karunatne, S. H. P. P. (1998) Mosquito carboxylester-ases: a review of the molecular biology and biochemistry of a major insecticide resistance mechanism. *Medical and Veterinary Entomology* 12, 1-12.

Hori, K. (1968) Feeding behavior of the cabbage bug, *Eurydema rugosa* Motschulsky (Hemiptera: Pentatomidae) on the cruciferous plants. *Applied Entomology and Zoology* 5, 51-61.

Hori, K. (1973) Studies on enzymes, especially amylases, in the digestive system of the bug *Lygus disponsi* and starch digestion in the system. *Research Bulletin of Obihiro University* 8, 173-260.

Huang, Y., Lam, S. & Ho, S. (2000) Bioactivities of essential oil from *Elletaria cardamomum* (L.) Maton. to *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* (Herbst). *Journal of Stored Products Research* 36, 107-117.

Huang, Z., Shi, P., Dai, J. & Du, J. (2004) Protein metabolism in *Spodoptera litura* (F.) is influenced by the botanical insecticide azadirachtin. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 80, 85-93.

Isman, M. B. (2000) Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection* 19, 603-608.

Isman, M. B. (2006) Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology* 51, 45-66.

Khosravi, R., Jalali Sendi, J. & Ghadamyari, M. (2010) Effect of *Artemisia annua* L. on deterrence and nutritional efficiency of lesser mulberry pyralid (*Glyphodes pyloalis* Walker) (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Plant Protection Research* 50, 423-428.

Koul, O. & Dhaliwal, G. S. (2001) *Phytochemical biopesticides*. 223 pp. Harwood Amsterdam Academy.

Koul, O., Singh, R., Singh, J., Singh, W., Daniewski, M., & Berlozecki, S. (2004) Bioefficacy and mode of action of some limonoids of salannin group from *Azadirachta indica* and their role in a multicomponent system against lepidopteran larvae. *Journal of Bioscience* 29, 409-416.

Leora Software (1987) *POLO-PC*: *a user's guide to probit or logit analysis*. LeOra Software, Barkely California.

Liu, C., Mishra, A., Tan, R., Tang, C., Yang, H. & Shen, Y. (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, 1969-1973.

Liu, Z. L., Hung Ho, S. & Hock Goh, S. (2008) Effect of fraxinellone on growth and digestive physiology of Asian corn borer, *Ostrinia furnacalis* Guenee. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 91, 122-127.

Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. & Randall, R. J. (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry* 193, 265-75.

Manzoomi, N., Nouri-Ganbalani, G., Dastjerdi, H. R. & Fathi, S. A. A. (2010) Fumigant toxicity of essential oils of *Lavandula officinalis*, *Artemisia dracunculus* and *Heracleum persicum* on the adults of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Munis Entomology and Zoology* 5(1), 118-122.

Marie, S. S., Amr, E. M. & Salem, N. Y. (2009) Effect of some plant oils on biological, physiological and biochemical aspects of *Spodoptera littoralis* (Boisd.). *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences* 5, 103-107.

Negahban, M., Moharramipour, S. & Sefidkon, F. (2007) Fumigant toxicity of essential oil from *Artemisia sieberi* Besser against three stored-product insects. *Journal of Stored Products Research* 43, 123-128.

Oppenorth, F. J. (1979) Glutathione S-transferase and hydrolytic activity in a tetrachlorvinphos-resistant strain of housefly and their influence on resistance. *Pesticide Biochemistry Physiology* 11, 176-178.

Owusu, E. O. (2001) Effect of some Ghanaian plant components on control of two stored-product insect of cereals. *Journal of Stored Products Research* 37, 85-91.

Peter, J., Landolt, R., Hofstetter, W. & Lisa, L. (1999) Plant essential oils as arrestants and repellents for neonate larvae of the codling moth (Lepidoptera: Tortricidae). *Physiology and Chemical Ecology* 12(5), 25-36.

Regnault-Roger, C., Philogène, B. J. R. & Vincent, C. (2005) *Biopesticides of plant origin*. 313 pp. Paris: Lavoisier**.** [In English].

Renaud, E. N. C., Charles, D. J. & Simon, J. E. (2001) Essential oil quantity and composition from ten cultivars of organically grown lavender and lavandin. *Journal Essential Oil Research* 13(4), 269-273.

Rezaei, V., Moharramipour, S., Fathipour, Y. & Talebi, A. A. (2006) Nutritional indices and host preference of American white webworm, *Hyphantria cunea* (Lep., Arctiidae) on five host plants. *Journal of Entomological Society of Iran* 26(1), 57-72. [In Persian with English summary].

Rivnay, E. (1962) *Field crop pests in the Near East*. 450 pp. W.Junk, Den Haag.

Sahaf, B. Z., Moharramipour, S. & Meshkatalsadat, M. H. (2007) Chemical constituents and fumigant toxicity of essential oil from *Carum copticum* against two stored product beetles. *Insect Science* 14, 213-218.

Sarfraz, M., Dosdall, L. & Keddie, B. (2007) Resistance of some cultivated Brassicaceae to infestations by *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Journal of Economic Entomology* 100, 215-224.

Sarfraz, M., Keddie, A. B. & Dosdall, L. M. (2005) Biological control of the diamondback moth, *Plutella xylostella*: a review. *Biocontrol Science and Technology* 15, 763-789.

Senthil Nathan, S. & Sehoon, K. (2006) Effect of *Melia azadarach* L. extract on the teak defoliator *Hyblaea puera* Cramar (Lep.: Hyblaeidae). *Crop Protection* 25(3), 287-291.

Senthil Nathan, S., Choi, M. Y., Seo, H. Y., Paik, C. H., Kalaivani, K. & Duk Kim, J. (2008) Effect of azadirachtin on acetylcholinesterase (AChE) activity and histology of the brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stal). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 70, 244-250.

Shekari, M., Jalali Sendi, J., Etebari, K., Zibaee, A. & Shadparvar, A. (2008) Effect of *Artemisia annua* L. (Asteraceae) on nutritional physiology and enzyme activities of elm leaf beetle *Xanthogaleruca luteola* Mull. (Col.: Chrysomellidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 91, 66-74.

Shelton, A. M, Sears, M. K., Wyman, J. A. & Quick, T. C. (1993) Comparison of action thresholds for lepidopterous larvae on fresh market cabbage. *Journal of Economic Entomology* 76, 196-199.

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.

Silveira Ramos, V., Freir, M. G. M., Parra, J. R. P. & Macedo, M. L. R. (2009) Regulatory effects of an inhibitor from *Plathymenia foliolosa* seeds on the larval development of *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera). *Comparative Biochemistry and Physiology* 152, 255-261.

Singh, G. & Upadhyay, R. K. (1993) Essential oils: a potent source of natural pesticides. *Journal of Scientific and Industrial Research* 52, 676-683.

Smith, C. M., Khan, Z. R. & Pathak, M. D. (1994) *Techniques for evaluating insect resistance in crop plants*. 319 pp. CRC press, Florida, USA.

Tabashnik, B. E. (1994) Evolution of resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Annual Review of Entomology* 39, 47-79.

Talekar, N. S. & Shelton, A. M. (1993) Biology, ecology, and management of the diamondback moth. *Annual Review of Entomology* 38, 275-301.

Terra, W. R. & Ferriera, C. (2005) Biochemistry of digestion. pp. 171-224 in Gilbert., L. I., Iatrou, K. & Gill., S. S. (Eds) *Comprehensive molecular insect science*. Vol. 4, 507 pp. Oxford: Elsevier.

Tripathi, A., Prajapati, V., Aggarwal, K., Khanuja, S. & Kumar, S. (2000) Repellency and toxicity of oil from *Artemisia annua* to certain stored-product beetles. *Journal of Economic Entomology* 93, 43-47.

Tsujita, T., Ninomiya, H. & Okuda, H. (1989) p-Nitrophenyl butyrate hydrolyzing activity of hormone-sensitive lipase from bovine adipose tissue. *Journal of Lipid Research* 30, 997-1004.

Verkerk, R. H. J. & Wright, D. J. (1996) Multitrophic interactions and management of the diamondback moth: a review. *Bulletin of Entomological Research* 86, 205-216.

Verma, R. S., Rahman, L. U., Chanotiya, C. S., Verma, R. K., Chauhan, A., Yadav, A., Singh, A. & Yadak, A. (2010) Essential oil composition of *Lavandula angustifolia* Mill. cultivated in the mid hills of Uttarakhand, India. *Journal of the Serbian Chemical Society 75*(3), 343-348.

Waldbauer, G. P. (1968) The consumption and utilization of foods by insects. *Advance in Insect Physiology* 5, 229-288.

Wang, J., Zhu, F., Zhou, X. M., Niu, C. Y. & 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, 339-347.

Yazdani, E., Jalali Sendi, J. & Aliakbar, A. (2013a) Chemical composition, toxicity and physiological effects of essential oil of *Rosemarinus officinalis* lesser mulberry pyralid, *Glyphodes pyloalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal Crop Protection* 2(4), 461-476.

Yazdani, E., Jalali Sendi, J., Khosravi, R., Hajizadeh, J. & Ghadamyari, M.(2013b) Effect of *Satureja hortensis* L. essential oil on feeding efficiency and biochemical properties of *Glyphodes pyloalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 46(3), 328-339.

Yoshitake, N., Eguchi, M. & Akiyama, A. (1966) Genetic control on the alkaline phosphatase of the midgut in the silkworm. *Journal of Sericultural Science of Japan* 3, 1-6.

Zibaee, A. & Bandani, A. R. (2010) Effects of *Artemisia annua* L. (Asteracea) on the digestive enzymatic profiles and the cellular immune reactions of the sun pest, *Eurygaster integriceps* (Heteroptera: Scutellaridae), against *Beauvaria bassiana*. *Bulletin of Entomological Research* 100(2), 185-196.

Zibaee, I., Bandani, A. R., Haghani, S. & Zibaee, A. (2009) Partial characterization of glutathione S-transferase in two populations of the Sunn pest, *Eurygaster integriceps* Puton (Heteroptera: Scutellaridae). *Munis Entomology and Zoology* 4, 492-499.