نامه انجمن حشره‌شناسی ایران
۱۳۹٤ - ۳۵(۳): ۳۹-٤۹

اثر حشره‌کشی فرمولاسیون نانوکپسول اسانس درمنه *Artemisia sieberi* Besser روی سوسک برگ‌خوار نارون *Xanthogaleruca luteolla* (Müller) (Coleoptera: Chrysomelidae)

مریم وهابی مشهور[۱]، سعید محرمی‌پور[۱*] و مریم نگهبان[۲]

۱- گروه حشره‌شناسی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران، ۲- بخش تحقیقات آفت‌کش‌ها، مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور.

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

Insecticidal activity of nanoencapsulated formulation of *Artemisia sieberi* Besser essential oil on *Xanthogaleruca luteola* (Müller) (Coleoptera: Chrysomelidae)

M. Vahabi Mashour[1], S. Moharramipour[1*] and M. Negahban[2]

1. Department of Entomology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, P. O. Box: 14115-336, Tehran, Iran, 2. Pesticide Research Department, Iranian Research Institute of Plant Protection,Tehran, Iran.

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

چکیده

پژوهش‌های وسیعی روی آفت‌کش‌های گیاهی به‌منظور دست‌یابی به جایگزین‌های سالم و مؤثرتر از آفت‌کش‌های شیمیایی انجام شده است. استفاده از فرمولاسیون نانوکپسول در آفت‌کش‌ها موجب افزایش کارایی، بهبود کیفیت و رهایش کنترل شده این مواد شده است. در این بررسی، اثرات سمی فرمولاسیون نانوکپسول حاوی اسانس گیاه درمنه، روی مراحل مختلف سوسک برگ‌خوار نارون مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش‌ها در شرایط دمایی ۲ ± ۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵ ± ٦۵ درصد در شرایط نوری ١٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انجام شد. فرمولاسیون تهیه شده هم‌زمان روی برگ و حشره محلول‌پاشی شد. نتایج نشان داد که LC_{50} فرمولاسیون نانوکپسوله شده اسانس درمنه، ٢٤ ساعت پس از کاربرد، برای تخم، لارو و حشره کامل به‌ترتیب برابر با ۵۲۷۹، ۳۹۳۹ و ۵١٦۹ پی‌پی‌ام و برای اسانس خالص درمنه این مقدار به‌ترتیب برابر با ٦۸۲۵، ۵۱۳۰ و ۸۰۳۵ پی‌پی‌ام می‌باشد. هم‌چنین فرمولاسیون نانوکپسول در غلظت ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام به‌طور معنی‌داری خسارت وارد شده به برگ توسط لاروهای سن دو و سه را در مقایسه با شاهد کاهش داد. براساس این نتایج، فرمولاسیون نانوکپسول اسانس درمنه می‌تواند در مدیریت سوسک برگ‌خوار نارون استفاده شود.

واژگان کلیدی: اسانس، درمنه، سوسک برگ‌خوار نارون، خسارت، نانوکپسول

Abstract

New formulations of botanical insecticides have been developed as an effective and safe compound alternative to synthetic pesticides. Application of nanoencapsulated formulations of pesticides enhance efficiency, quality and controlled release of these substances. In this research, insecticidal activity of essential oil of wormwood sagebrush *Artemisia sieberi* Besser was investigated on various stages of elm leaf beetle *Xanthogaleruca luteola* (Müller). The experiments were conducted at 25 ± 2 °C, 65 ± 5% RH and a photoperiod of 16: 8 h (L: D). The formulated essential oil was sprayed on leaves and insects simultaneously. The LC_{50} value of the formulation was 5279, 3939 and 5169 ppm for eggs, larvae and adults, respectively. Treatment of leaves by nanoencapsulated oil at 3000 ppm caused significant reduction at larval stage compared to control. Our findings suggest that the use of nanoencapsulated essential oil can be effective in the management of elm leaf beetle.

Key word: essential oil, *Artemisia sieberi*, elm leaf beetle, damage, nanoencapsule

مقدمه

سوسک برگ‌خوار نارون *Xanthogaleruca luteola* (Müller) (Coleoptera: Chrysomelidae) یکی از آفات مهم درختان نارون است که در مراحل لاروی و بالغ از برگ‌های گیاه میزبان تغذیه می کند و باعث بدشکلی تاج درخت و اختلالات فیزیولوژیکی می‌شود. درختان آلوده ضعیف شده و به آفات دیگر، عوامل بیماری‌زا و تنش‌های محیطی حساس می‌شوند (Arbab *et al.*, 2001).

امروزه، کنترل شیمیایی به‌عنوان یک روش مؤثر به‌طور گسترده‌ای استفاده می‌شود. یکی از مشکلات کلیدی در کشاورزی توسعه مقاومت آفات به حشره‌کش‌های شیمیایی می‌باشد. هم‌چنین اثرات زیان‌بار حشره‌کش‌های شیمیایی بر موجودات غیرهدف و کارگران فضای سبز قابل توجه است. بنابراین توسعه روش‌های جایگزین امن و دوست‌دار طبیعت مورد نیاز است (Akhtar & Isman, 2004). استفاده از اسانس‌های

دریافت: ۱۳۹٤/۲/۸، پذیرش: ۱۳۹٤/۷/۹.

گیاهی به‌عنوان حشره‌کش‌های تجاری در دهه اخیر در حال گسترش می‌باشند (Yi *et al*., 2007). تاکنون علی‌رغم اهمیت سوسک برگ‌خوار نارون در فضای سبز شهری، مطالعات اندکی درباره اثر اسانس و عصاره‌های گیاهی روی آن انجام شده است. در این راستا، اثرات حشره‌کشی گندواش، *Artemisia annua* L.، آقطی، *Sambucus ebulus* L.، آویشن، *Thymus vulgaris* L. و اسطوخودوس *Lavandula angustifolia* L. روی سوسک برگ‌خوار نارون بررسی شده است (Khosravi & Jalali Sendi 2013; Jalali Sendi *et al*., 2005). هم‌چنین Amirmohamadi & Jalali Sendi (2013) اثر سوء تغذیه‌ای و فیزیولوژیکی اسانس گیاه رزماری *Rosmarinus officinalis* L. روی سوسک برگ‌خوار نارون را گزارش نمودند. به‌علاوه در بررسی Defago *et al.* (2006) اثر حشره‌کشی و ضدتغذیه‌ای عصاره برگ و میوه گیاه زیتون تلخ، *Melia azedarach* L. روی سوسک برگ‌خوار نارون بررسی شده است. لکن تاکنون اطلاعاتی از اثرات حشره‌کشی اسانس و فرمولاسیون نانوکپسول گیاه درمنه *Artemisia sieberi* Besser روی سوسک برگ‌خوار نارون در دسترس نمی‌باشد. در راستای بررسی تأثیر فرمولاسیون اسانس‌های گیاهی روی آفات، خواص دورکنندگی و ضدتغذیه‌ای نانوکپسول اسانس گیاه درمنه (Negahban *et al*., 2013a, b) و زنیان *Carum copticum* (L.) (Jamal *et al.*, 2013) روی بید کلم *Plutella xylostella* (L.) بررسی شده است. اما در این پژوهش اثر سمیت فرمولاسیون جدید نانوکپسول حاوی اسانس گیاه درمنه روی مراحل زیستی سوسک برگ‌خوار نارون شامل تخم، لارو سن دوم، حشره کامل و خسارت وارد شده توسط لارو سن دو و سه به برگ‌ها در تیمار فرمولاسیون نانوکپسول اسانس درمنه در مقایسه با شاهد مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه اسانس

جهت تهیه اسانس، ابتدا بذور گیاه درمنه، با کمک خردکن برقی به‌صورت پودر درآمدند. در هر نوبت اسانس‌گیری ٤٠ گرم بذر گیاه با ٦٥٠ میلی‌لیتر آب مقطر با استفاده از دستگاه اسانس‌گیر شیشه‌ای مدل Clevenger در دمای ١٠٠ درجه سلسیوس به روش تقطیر با آب اسانس‌گیری شد. زمان اسانس‌گیری برای هر نمونه ٤ ساعت درنظر گرفته شد. اسانس‌های جمع‌آوری شده با کمک سولفات سدیم آب‌گیری و تا زمان استفاده در ظروف شیشه‌ای به حجم ٢ میلی‌لیتر با روپوش آلومینیومی، داخل یخچال، دمای ٤ درجه سلسیوس نگه‌داری شدند (Negahban *et al.*, 2007).

تهیه فرمولاسیون نانوکپسول اسانس درمنه

برای تهیه فرمولاسیون اسانس حاوی ١٠ درصد ماده مؤثره از روش پلیمراسیون هم‌زمان به روش امولسیونی روغن در آب (O/W) استفاده شد. اسانس گیاهی موردنظر به‌عنوان هسته نانوکپسول، اوره و فرمالدیید ٣٧٪ به‌عنوان مواد تشکیل‌دهنده پیش پلیمرهای اوره فرمالدهید و درنهایت دیواره نانوکپسول انتخاب شدند. در دمای ٢٥-٢٠ درجه سیلسیوس اوره و فرمالدیید ٣٧ درصد به نسبت وزنی مشخص به‌همراه ٣٠٠ میلی‌لیتر آب یونیزه شده به‌منظور تهیه پیش پلیمر به راکتور مجهز به همزن مکانیکی منتقل گردید. بعد از حل شدن اوره دما در مدت ٤٥ دقیقه به ٦٠ تا ٦٥ درجه سیلسیوس و pH به ٨ رسید. بعد از این که پیش‌پلیمر اوره فرمالدیید آماده شد دور همزن را بالا برده و امولسیفایر یک درصد به‌تدریج و سپس اسانس به‌صورت قطره قطره اضافه شد. بعد از گذشت ٢٠ تا ٣٠ دقیقه pH محلول با اسیدسولفوریک ١٠ درصد به ٣ رسانده شد تا دیواره پلی‌اوره فرمالدیید ذرات اسانس را

دربرگیرد. بعد از گذشت ٤ ساعت واکنش کامل و نانوکپسول‌ها به بهترین شکل خود تشکیل شدند. در این روش فراوانی ذرات در اندازه نانو توسط دستگاه Laser light scattering به روش نگهبان و همکاران (۱۳۹۲) به اثبات رسیده است (Negahban *et al.*, 2013a).

تعیین LC_{50} تماسی فرمولاسیون نانوکپسول حاوی اسانس درمنه

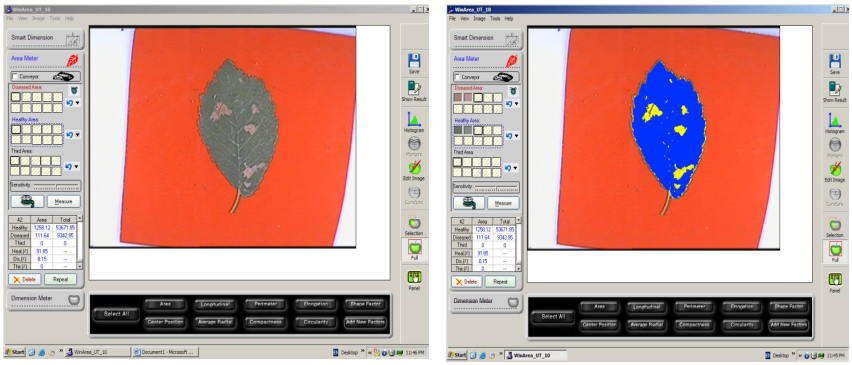
برای بررسی اثر سمی اسانس غیرنانو و فرمولاسیون نانوکپسول، غلظت لازم برای مرگ‌ومیر ۵۰٪ از جمعیت (LC_{50}) محاسبه شد. بدین‌منظور طی آزمایش‌های مقدماتی غلظت لازم برای مرگ‌ومیر ۲۰٪ و ۸۰٪ جمعیت به‌دست آمد. سپس غلظت‌های مابین آن براساس غلظت‌های نزدیک به فواصل لگاریتمی محاسبه و مورد آزمایش قرار گرفت. آزمایش در ظروف پتری با قطر ۵ و ارتفاع ۱/٤ سانتی‌متر حاوی برگ نارون انجام شد. آزمایش در چهار تکرار و پنج غلظت انجام و افراد زنده و مرده پس از ٢٤ ساعت شمارش شدند. برای تعیین LC_{50} روی تخم در هر تکرار از یک دسته تخم ۸ تا ۲۸ تایی یک روزه و برای لارو سن دو یک روزه و حشرات کامل در هر تکرار از ۱۰ حشره استفاده شد. ملاک تعیین مرگ‌ومیر تخم، عدم تفریخ تخم بود. بدین‌منظور زمانی که حداکثر تخم‌ها در شاهد تفریخ شدند (مرگ‌ومیر کم‌تر از ۱۰٪) زمان تعیین مرگ‌ومیر تخم‌ها فرا می‌رسید (Kim *et al.*, 1999). آزمایش-های موردنظر همراه با شاهد در شرایط دمایی ۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ٥ ± ٦٥ درصد و شرایط نوری ١٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انجام گرفت. مقادیر LC_{50} به روش Finney (1971) و با استفاده از نرم‌افزار SAS 6.12 محاسبه شد. اما سایر تجزیه‌های آماری بین غلظت‌های مختلف اسانس غیرنانو و فرمولاسیون نانوکپسول درمنه با نرم‌افزار آماری SPSS و رسم شکل با استفاده از نرم‌افزار Excel 2007 انجام شد.

برای رقیق کردن اسانس در فرمولاسیون غیرنانو از حلال اتانول ده درصد استفاده شد. غلظت‌های مورد استفاده برای اسانس خالص گیاه درمنه برای حشرات کامل ۳-۲ روزه ٥٠٠٠، ٦٠٠٠، ٨٠٠٠، ١٠٠٠٠و ١٢٠٠٠ ppm و برای فرمولاسیون نانوکپسول ٣٠٠٠، ٤٠٠٠، ٥٠٠٠، ٦٠٠٠ و ٨٠٠٠ ppm می‌باشد. غلظت‌های مورد استفاده اسانس خالص برای تخم‌های یک روزه سوسک برگ‌خوار نارون ٤٠٠٠، ٥٠٠٠، ٧٠٠٠، ٩٠٠٠ و ١٢٠٠٠ ppm و برای فرمولاسیون نانوکپسول اسانس برابر با ٤٠٠٠، ٥٠٠٠، ٦٠٠٠، ٧٠٠٠ و ٩٠٠٠ ppm می‌باشد. غلظت‌های مورد استفاده اسانس خالص گیاه درمنه برای لارو سن دو یک روزه سوسک برگ‌خوار نارون ٣٠٠٠، ٤٠٠٠، ٥٠٠٠، ٧٠٠٠ و ٩٠٠٠ ppm و برای فرمولاسیون نانوکپسول اسانس برابر با ٢٠٠٠، ٣٠٠٠، ٤٠٠٠، ٥٠٠٠ و ٧٠٠٠ ppm می‌باشد. در هر تکرار حشرات در درون ظروف پتری حاوی برگ قرار گرفت و محلول‌پاشی انجام شد. در هر بار محلول‌پاشی یک و نیم میلی‌لیتر از محلول مصرف شد پس از گذشت ٢٤ ساعت از زمان کاربرد محلول تعداد حشرات مرده در ظروف تیمار و شاهد شمارش گردید. جهت اطمینان از درست بودن ارزیابی‌ها حشرات فوق در ظرف تمیز نگه‌داری شدند و مجدداً ٢٤ ساعت بعد اقدام به تعیین مرده و زنده بودن آن‌ها شد. با توجه به این‌که در تعداد افراد مرده و زنده در ارزیابی اول با ارزیابی دوم اختلافی مشاهده نشد، شمارش افراد مرده و زنده ٢٤ ساعت پس از تیمار انجام گردید.

ارزیابی خسارت لاروهای سن دوم و سوم نسبت به فرمولاسیون نانوکپسول

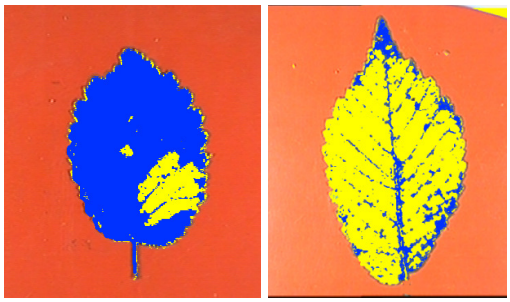
در این آزمایش در هر تکرار ۵ عدد لارو سن دو و سه یک روزه مورد استفاده قرار گرفت. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۵ تکرار انجام شد. برگ های نارون پس از فرو بردن در محلول حاوی

فرمولاسیون نانوکپسول اسانس درمنه با غلظت ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام (معادل حدود غلظت کشنده ۵۰ درصد از لاروها)، در زیر هود قرار گرفتند تا محلول روی برگ خشک شود و سپس داخل ظروف در اختیار لارو قرار داده شد. لازم به ذکر است که در این آزمایش‌ها برای تیمار شاهد از آب استفاده شد. هر روز یک برگ تازه در محلول نانوکپسول فرو برده و در اختیار لارو قرار گرفت. آزمایش به‌مدت پنج روز برای لارو سن دو و به‌مدت سه روز برای لارو سن سه ادامه یافت. برگ‌های مورد تغذیه توسط لارو، در هر روز، جمع‌آوری و پس از پایان آزمایش، سطح برگ خورده شده توسط دستگاه اندازه‌گیری مساحت برگ Win area meter UT-10 اندازه‌گیری شد (شکل ۱ و ۲). در این روش هر برگ روی دستگاه منتقل و مساحت سطح برگ سالم و سطح خورده شده به‌دست آمد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS تجزیه آماری شدند.



شکل ۱- تصویر اسکن شده برگ خورده شده غیرنشان‌دار (سمت چپ) و برگ نشان‌دار (سمت راست). رنگ آبی (سالم) و رنگ زرد (خورده شده). توسط نرم‌افزار Win area-UT-10 برای اندازه‌گیری سطح برگ خورده شده.

Fig. 1. Scanned image of unmarked damaged leaf (left) and marked leaf (right). Blue color (intact) and yellow color (damaged). Dameged area was measured by leaf area meter (Win area-UT-10).



شکل ۲- تصویر برگ آسیب دیده توسط لارو سن سوم سوسک برگ‌خوار نارون در برگ تیمار شده با فرمولاسیون نانوکپسول اسانس درمنه در غلظت ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام (سمت چپ) و شاهد آب (سمت راست). رنگ زرد در تصویر محل‌های خورده شده را نشان می‌دهد.

Fig. 2. Scanned image of damaged leaf by 3rd instar larvae of *Xanthogaleruca luteola*. Damaged leaf treated by nanoencapsulated essential oil at 3000 ppm (right) and control (right). Yellow color is referred to damaged area.

نتایج

تعیین LC_{50} تماسی فرمولاسیون نانوکپسول حاوی اسانس درمنه

سمیت اسانس خالص و فرمولاسیون نانوکپسول اسانس گیاه درمنه روی تخم، لارو سن دوم و حشره کامل سوسک برگ‌خوار نارون با محلول‌پاشی فرمولاسیون نانوکپسول در غلظت‌های مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت. مقدار LC_{50} برای اسانس درمنه غیرنانو در مدت زمان ۲٤ ساعت به‌ترتیب برابر با ٦٨٢٥، ٥١٣٠ و ٨٠٣٥ پی‌پی‌ام و برای فرمولاسیون نانوکپسول اسانس درمنه در مدت مشابه برای تخم، لارو سن دوم و حشره کامل به‌ترتیب ٥٢٧٩، ٣٩٣٩ و ٥١٦٩ پی‌پی‌ام بود (جدول ۱). مقایسه مقادیر LC_{50} محاسبه شده نشان می‌دهد که مقدار محلول لازم برای ایجاد ۵۰ درصد مرگ‌ومیر در افراد جمعیت برای فرمولاسیون نانوکپسول نسبت به اسانس فرموله نشده کم‌تر شده است. هم‌چنین محاسبه مقادیر سمیت نسبی نشان می‌دهد که مقادیر LC_{50} مراحل تخم، لارو و حشرات کامل فرمولاسیون نانو نسبت به اسانس غیرنانو به‌طور معنی‌داری کم‌تر است (جدول ۲). بنابراین فرموله کردن اسانس موجب افزایش قدرت حشره‌کشی آن شده است.

جدول ۱- مقادیر LC_{50} محاسبه شده برای اسانس درمنه فرموله نشده و فرمولاسیون نانوکپسول روی تخم، لارو و حشرات کامل سوسک برگ‌خوار نارون.

Table 1. The LC_{50} values of non-formulated and nanoencapsulated *Artemisia sieberi* essential oil tested on eggs, larvae and adults of elm leaf beetle.

Stage	Formulation	N	χ^2 (df)	P- value	Slope ± SE	LC_{50} (ppm)	95% confidence limits (ppm)
Egg	NFEO	277	0.688 (3)	0.876	3.493 ± 0.482	6825	(6101 - 7583)
	NEO	264	0.353 (3)	0.950	5.686 ± 0.724	5279	(4900 - 5648)
Larvae	NFEO	200	0.447 (3)	0.930	3.039 ± 0.568	5130	(4419 - 5944)
	NEO	200	2.169 (3)	0.538	2.572 ± 0.515	3939	(3315 - 4717)
Adult	NFEO	200	1.985 (3)	0.576	3.891 ± 0.679	8035	(7319 - 8856)
	NEO	200	1.985 (3)	0.576	3.891 ± 0.679	5169	(4624 - 5844)

NFEO: Non-formulated essential oil, NEO: Nanoencapsulated essential oil.

جدول ۲- مقایسه مقادیر LC_{50} اسانس فرموله نشده با اسانس فرموله شده برای تخم، لارو و حشرات کامل سوسک برگ‌خوار نارون توسط محاسبه سمیت نسبی.

Table 2. Comparison of LC_{50} values between nonformulated and formulated essential oils tested on eggs, larvae and adults of the elm leaf beetle by relative median potency.

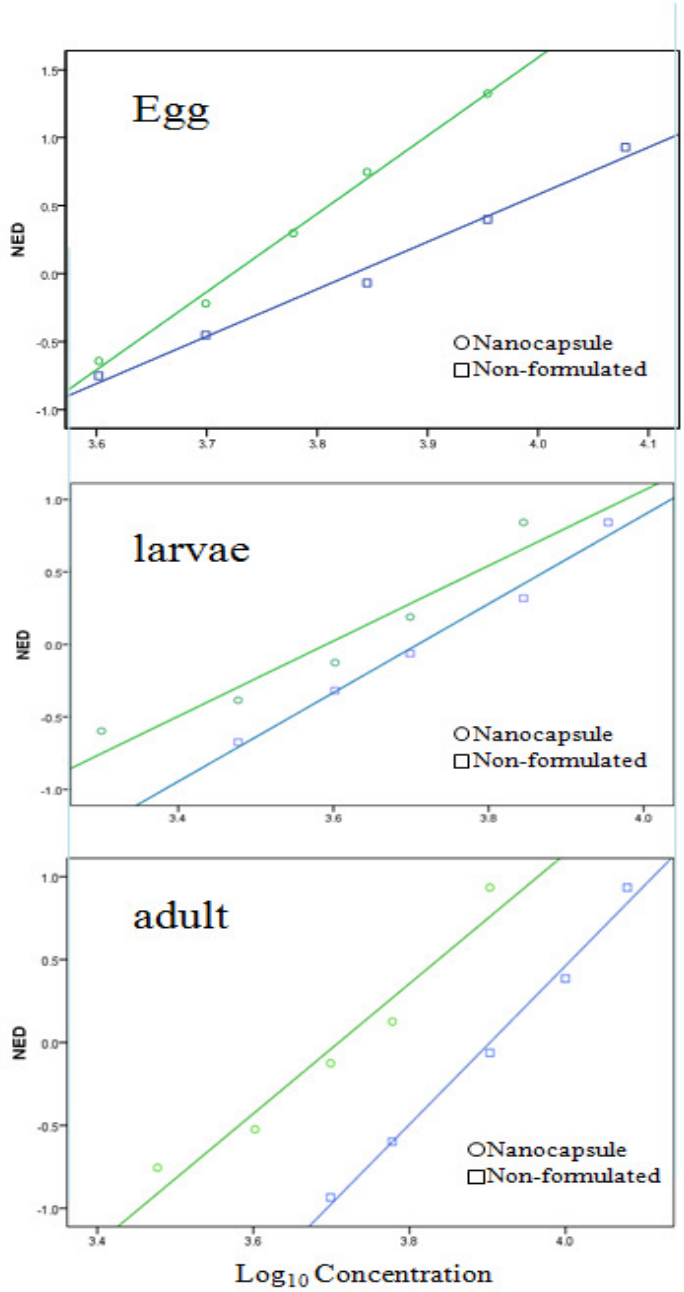
Stage	RMP (LC_{50}A/LC_{50}B)	95% confidence limits	
		Lower	Upper
Eggs	1.329	1.151	1.592
Larvae	1.304	1.036	1.790
Adults	1.564	1.267	2.130

RMP: Relative Median Potency, A: Non-formulated essential oil, B: Nanoencapsulated essential oil.

مقایسه حدود اطمینان ۹۵ درصد مقادیر LC_{50} محاسبه شده برای فرمولاسیون اسانس در مرحله تخم، لارو و حشره کامل نشان می‌دهد که مرحله لاروی نسبت به تخم و حشرات کامل حساس‌تر می‌باشد. این درحالی است که مقادیر LC_{50} تخم و حشرات کامل اختلاف معنی‌داری نداشته است.

مقایسه شیب خطوط پروبیت اسانس غیرنانو با فرمولاسیون نانوکپسول در مرحله تخم نشان داد که با هم اختلاف معنی‌داری دارند ($\chi^2 = 0.373$, df = 1, p = 0.012). مقایسه شیب خطوط

پروبیت اسانس غیرنانو با فرمولاسیون نانوکپسول در مرحله لاروی نشان داد که با هم اختلاف معنی‌داری ندارند، درنتیجه خطوط پروبیت با هم موازی هستند (χ^2 = 0.430, df = 1, p = 0.512). هم‌چنین مقایسه شیب خطوط پروبیت برای حشرات کامل نیز معنی‌دار نبود (χ^2 = 0.891, df = 1, p = 0.345) (شکل ۳).



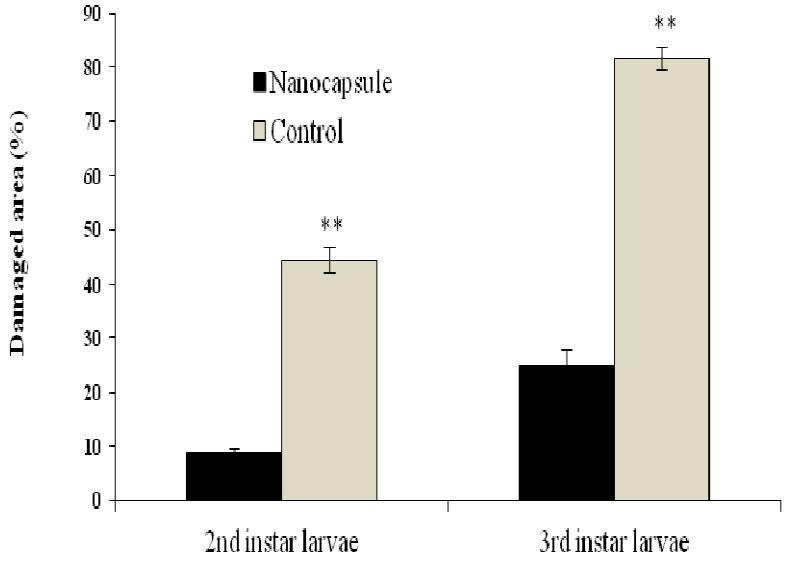
شکل ۳- تجزیه پروبیت مرگ‌ومیر تخم، لارو و حشرات کامل سوسک برگ‌خوار نارون توسط اسانس غیرفرموله و فرمولاسیون نانوکپسول اسانس درمنه. NED بیانگر انحراف معادل نرمال می‌باشد

Fig. 3. Probit analysis of mortality in eggs, larvae and adults of *Xanthogaleruca luteola* treated by non-formulated and nanoencapsulated essential oil of *Artemisia sieberi*. NED is refered to normalized equivalent deviation.

ارزیابی خسارت گوارشی لاروهای سن دوم و سوم در واکنش به فرمولاسیون نانوکپسول

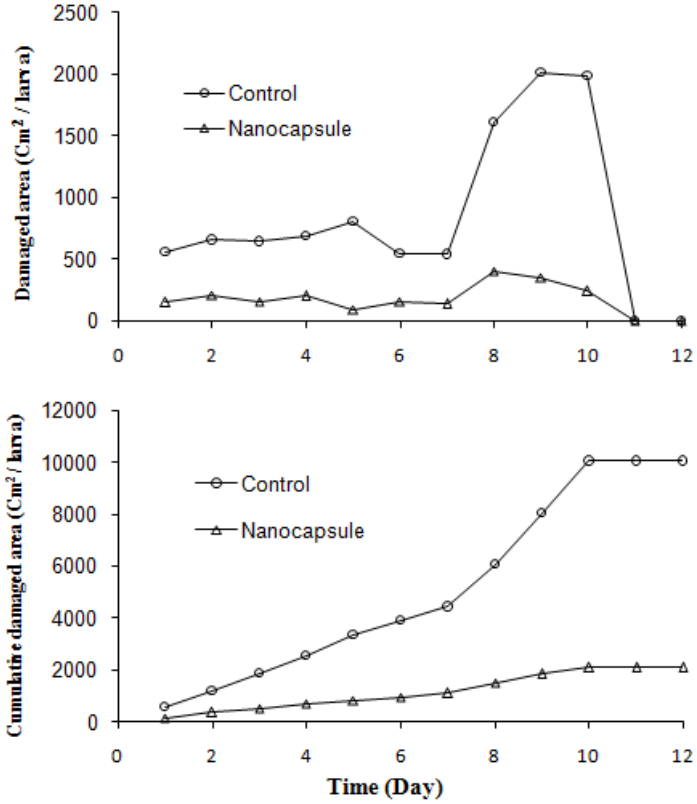
تغذیه لارو سن دوم و سوم از برگ‌های تیمار شده با فرمولاسیون نانوکپسول اسانس درمنه با غلظت ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام، باعث کاهش چشم‌گیر و معنی‌داری در خسارت وارد شده به برگ نارون، در مقایسه با شاهد شد (شکل ٤). مساحت سطح برگ خورده شده توسط لاروهای سن دوم در تیمار فرمولاسیون نانوکپسول اسانس نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری کم‌تر بود ($t = 15.501, df = 82, p < 0.0001$). هم‌چنین مساحت سطح برگ خورده شده توسط لاروهای سن سوم در تیمار فرمولاسیون نانوکپسول اسانس نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری کم‌تر بود ($t = 14.901 , df = 39 , p < 0.0001$).

مطابق نتایج حاصل از آزمایش، مساحت تغذیه هر لارو سن دو در تیمار شاهد، ۵۰۰ تا ۱۰۰۰ سانتی‌متر مربع و برای لارو سن سوم ٦۰۰ تا ۲۰۰۰ سانتی‌متر مربع بود. لکن در روز چهارم و پنجم لارو سن سوم تغذیه نداشت و لذا مساحت برگ خورده شده به صفر رسید. در تیمار فرمولاسیون نانوکپسول، مساحت تغذیه شده توسط لاروهای سن دوم و سوم کم‌تر از ۵۰۰ سانتی‌متر مربع بود (شکل ۵). هم‌چنین نتایج نشان می‌دهد که خسارت لارو در سن آخر (سن سوم) بسیار مخرب و قابل توجه است و این امر لزوم کنترل آفت را در مراحل سنی پایین‌تر نشان می‌دهد. هم‌چنین نتایج نشان می‌دهد که خسارت هر لارو تنها در مدت یک روز در تیمار شاهد می‌تواند تا هشت برابر بیش‌تر از تیمار استفاده شده با فرمولاسیون نانوکپسول باشد (شکل ٦).



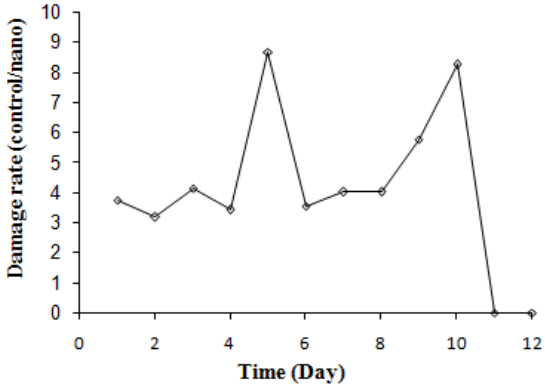
شکل ٤- بررسی میزان خسارت برگ تیمار شده با فرمولاسیون نانوکپسول اسانس درمنه و شاهد (آب) توسط لارو سن دوم و سوم سوسک برگ‌خوار نارون. ** اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد با استفاده از آزمون t-student مستقل.

Fig. 4. Damaged leaf area fed by 2nd and 3rd instar larvae of *Xanthogaleruca luteola* when leaves treated by non-formulated and nanoencapsulated essential oil of *Artemisia sieberi*. ** indicate significant differences between control and treated leaf at 1% level independent t-student test.



شکل ٥- مساحت برگ خورده شده از شروع لارو سن دوم تا پایان سن سوم سوسک برگ‌خوار نارون در برگ‌های تیمار شده با فرمولاسیون نانوکپسول اسانس درمنه و شاهد آب (شکل بالا) و مساحت تجمعی برگ خورده شده (شکل پایین).

Fig. 5. Daily damaged leaf area fed from 2nd to end of 3rd instar larvae of *Xanthogaleruca luteola* when leaves treated by nanoencapsulated essential oil of *Artemisia sieberi* over 12 days.



شکل ٦- نرخ تغذیه از برگ توسط لارو سن دوم و تا پایان سن سوم سوسک برگ‌خوار نارون در برگ‌های تیمار شده با نانوکپسول اسانس درمنه و شاهد (آب).

Fig. 6. Damage rate of larvae of *Xanthogaleruca luteola* when leaves treated by nanoencapsulated essential oil of *Artemisia sieberi* over 12 days.

بحث

اثر سمیت توأم تماسی و گوارشی فرمولاسیون نانوکپسول و اسانس غیرنانو گیاه درمنه روی مراحل زیستی سوسک برگ‌خوار نارون مورد بررسی قرار گرفت. هر چند که میزان سمیت فرمولاسیون نانوکپسول اسانس درمنه، برای سوسک برگ‌خوار نارون، نسبت به اسانس غیرنانو اختلاف معنی‌دار نداشت. اما با این حال می‌توان با محلول کم‌تری مراحل زیستی حشره را کنترل نمود. پژوهش‌های Sanna Passino *et al*. (2004) روی بید کلم با فرمولاسیون میکروکپسول اسانس رزماری و آویشن نشان داد که با استفاده از اسانس میکروکپسوله مرگ‌ومیر افزایش قابل‌توجهی داشته و علی‌رغم گذشت ۲۵ روز هنوز میکروکپسول‌ها حاوی ۷۵ درصد اسانس بودند. نتایج نشان داد که لارو سن دو، حساس‌ترین مرحله آفت نسبت به اسانس و فرمولاسیون نانوکپسول درمنه می‌باشد. به‌نظر می‌رسد که محلول فرمولاسیون نانوکپسول توسط موهای بدن لارو به دام افتاده و چسبندگی ذرات نانوکپسول به موهای بدن لارو تأثیر آن را افزایش دهد. چنین وضعیتی توسط میکروکپسول‌های تولید شده از اسانس رزماری روی لارو ابریشم‌باف ناجور *Lymantria dispar* (L.) گزارش شده است (Moretti *et al.*, 2002). هم‌چنین می‌توان علت حساس‌تر بودن لارو سوسک برگ‌خوار نارون به اسانس و فرمولاسیون نانوکپسول اسانس را به بیش‌تر بودن میزان تغذیه و بیش‌تر بودن سطح تماس بدن لاروها با برگ به علت نحوه حرکت نسبت به مراحل دیگر زیستی حشره نسبت داد. در بررسی اثر حشره‌کشی گندواش و آقطی، روی سوسک برگ‌خوار نارون در غلظت‌های ۱، ۵ و ۱۰ درصد در شرایط آزمایشگاهی، لارو سن یک در کلیه تیمارها ۱۰۰ درصد تلفات داشت اما کم‌ترین تأثیر روی لاروهای سن سوم مشاهده شد. هم‌چنین عصاره گندواش *Artemisia annua* L. با میانگین ۹۱/۳۲ درصد نسبت به آقطی *Sambucus ebulus* L. (۷۷/۱۱ درصد) تأثیر بیش‌تری در مرگ‌ومیر لارو سوسک برگ‌خوار نارون داشته است (Sendi *et al*., 2005; Jalali). در ضمن ازآنجاکه در مقایسه شیب خطوط پروبیت در مراحل لاروی و حشرات کامل اختلاف معنی‌داری بین دو فرمولاسیون وجود ندارد لذا به‌نظر می‌رسد که فرمولاسیون نانوکپسول در مکانیسم غیرسمی شدن با فرمولاسیون غیرنانو اختلافی ایجاد نکند.

ارزیابی خسارت وارد شده به برگ در اسانس نانوکپسوله شده درمنه توسط لارو سن دو و سه

نتایج نشان می‌دهد که تغذیه لارو از برگ‌های تیمار شده با فرمولاسیون نانوکپسول اسانس درمنه، موجب کاهش خسارت وارد شده به برگ‌ها می‌شود. کاهش خسارت می‌تواند ناشی از دو علت باشد. علت اول این‌که اسانس درمنه به‌دلیل وجود خاصیت بازدارندگی تغذیه می‌تواند موجب کاهش تغذیه شود. دلیل دیگر می‌تواند به‌خاطر خواص سمی ترکیبات اسانس درمنه باشد. در این‌صورت حشره ممکن است به‌دلیل سمیت پس از تغذیه ضعیف شده و امکان تغذیه بیش‌تر را نداشته باشد. برای اثبات این دو مدعا آزمایش‌های جداگانه‌ای لازم است طراحی و اجرا شود. بررسی شاخص‌های تغذیه‌ای لاروهای تیمار شده با اسانس نانوکپسول لازم به‌نظر می‌رسد. تغذیه لاروهای سن سوم فقط به‌مدت سه روز ادامه داشت پس از آن در روزهای چهارم و پنجم به‌علت ورود لارو در مرحله سرگردانی (Wandering) متوقف شد. از نتایج آزمایش می‌توان نتیجه گرفت که تولید فرمولاسیون نانوکپسول نه‌تنها از قدرت حشره‌کشی نکاسته است بلکه توانسته در غلظت ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام خسارت لارو نسبت به شاهد را به شدت کاهش دهد. در ضمن نتایج نشان می‌دهد

که خسارت لاروهای سن آخر بسیار مخرب و قابل توجه است لذا لزوم کنترل جدی افت در سنین اولیه لاروی توصیه می‌شود.

با توجه به مضرات مصرف سموم شیمیایی برای کنترل آفات در چند دهه اخیر، ضرورت تولید و استفاده از آفت‌کش‌های گیاهی سالم و سازگار با محیط‌زیست بر کسی پوشیده نیست. لذا پیشنهاد می‌شود که مطالعات لازم درباره کاربرد آفت‌کش‌های گیاهی برای کنترل آفات مهم فضای سبز شهری در اولویت قرار گیرد و جایگزین‌های مناسب و بی‌خطر برای آفت‌کش‌های شیمیایی معرفی و مورد قبول واقع شوند.

منابع

Akhtar, Y. & Isman, M. B. (2004) Comparative growth inhibitory and antifeedant effects of plant extracts and pure allelochemicals on four phytophagous insect species. *Journal of Applied Entomology* 128, 32-38.

Amirmohammadi, F. & Jalali Sendi J. (2013) The effect of essential oil of *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae) on mortality and physiological parameters of *Xanthogaleruca luteola* Mull. (Coleoptera: Chrysomelidae). *Plant Pests Research* 3, 59-68.

Arbab, A., Jalali, J. & Sahragard, A. (2001) On the biology of elm leaf beetle *Xonthogaleruca luteola* (Coleoptera: Chrysomellidae) in laboratory conditions. *Journal of the Entomological Society of Iran* 21, 73-85.

Defago, M., Valladares, G., Banchio, E., Carpinella, C. & Palacios, S. (2006) Insecticide and antifeedant activity of different plant parts of *Melia azedarach* on *Xanthogaleruca luteola. Fitoterapia* 77, 500-505.

Finney, D. J. (1971) Probit Analysis. 3th ed. Cambridge University Press. London.

Jalali Sendi, J., Arbab, A. and Aliakbar, A. R. (2005) The efficacy of aqueous plant extracts of wormwood and dwarf elder against elm leaf beetle *Xanthogaleruca luteola* Mull. (Coleoptera: Chrysomelidae). *Agricultural Knowledge* 15, 115-120.

Jamal, M., Moharramipour S., Zandi, M. & Negahban, M. (2013) Efficacy of nanoencapsulated formulation of essential oil from *Carum copticum* seeds on feeding behavior of *Plutella xylostella* (Lep.: Plutellidae). *Journal of Entomological Society of Iran* 33, 23-31.

Khosravi, R. & Jalali Sendi, J. (2013) Toxicity, development and physiological effect of *Thymus vulgaris* L. and *Lavandula angustifolia* L. Essential oils on *Xanthogaleruca luteola* (Coleoptera: Chrysomelidae*). Journal of King Saud University Science* 25, 349-355.

Kim, Y., Lee, H., Lee, S., Kim, G. & Ahn, Y. (1999) Toxicity of tebufenpyrad to *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Amblyseius womersleyi* (Acari: Phytoseiidae) under laboratory and field conditions. *Journal of Economic Entomology* 92, 187-192.

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. & 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.

Negahban, M., Moharramipour, S., Zand, M. & Hashemi, S. A. (2013a) Efficiency of nanoencapsulated essential oil of *Artemisia sieberi* on nutritional indices of *Plutella xylostella*. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 29, 692-708.

Negahban, M., Moharramipour, S., Zand, M. & Hashemi, S. A. (2013b) Repellent activity of nanoencapsulated essential oil of *Artemisia sieberi* Besser on *Plutella xylostella* L. larvae. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 29 (4), 909-924.

Sanna Passino, G., Moretti, M. & Bazzoni, E. (2004) Microencapsulated essential oils active against indianmeal moth. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas* 30, 125-132.

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: Bracinidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology* 10, 157-163.