تاثیر اسانس آویشن و رزماری روی کشندگی و پارامترهای فیزیولوژیک شب‌پره پشت الماسی *Plutella xylustella* L.

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

[۱] رشت، دانشگاه گیلان، دانشکده کشاورزی، گروه گیاه پزشکی

[۲] تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی، گروه حشره شناسی

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۰/۱ تاریخ پذیرش: ۹۲/۷/۹

چکیده

تاثیر اسانس دو گیاه دارویی از خانواده نعناعیان (Lamiaceae) شامل آویشن و رزماری روی کشندگی و پارامترهای فیزیولوژیک شب‌پره پشت الماسی *Plutella xylustella* مورد بررسی قرار گرفت. سمیت حاد تماسی گوارشی، روی لارو سن سوم شب‌پره بدست آمد. میزان LC_{10}، LC_{30} و LC_{50} برای اسانس گیاه رزماری به ترتیب ۰/۰۵۱، ۰/۳۷۲ و ۱/۱۹۸ درصد و برای گیاه آویشن به ترتیب ۰/۰۱۲۹، ۰/۰۶۳۸ و ۰/۳۲۵ درصد بود. با توجه به نتایج بیشترین خاصیت حشره‌کشی مربوط به اسانس گیاه آویشن بود. اثر دورکنندگی تحت غلظت‌های زیر کشنده LC_{10} و LC_{30} اسانس‌های گیاهی روی لارو سن سوم شب‌پره بررسی شد و نتایج برای رزماری به ترتیب ۴/۴۲ ± ۲۷/۲ و ۰/۳۱ ± ۴۰/۶ درصد و برای اسانس آویشن به ترتیب ۳/۸۵ ± ۴۳/۷۲ و ۴/۵۱ ± ۵۶/۰۵ بدست آمد. نرخ مصرف نسبی، کارایی تبدیل غذای خورده شده، کارایی تبدیل غذای هضم شده، قابلیت هضم نسبی و نرخ رشد نسبی در لاروهای تیمار شده تفاوت معنی‌داری با شاهد نشان داد. همچنین تاثیر اسانس‌های گیاهی روی میزان آنزیم-های گوارشی، پروتئین، تری‌گلیسیرید کل، آلکالین فسفاتاز، پروتئاز و آلفا آمیلاز در لاروهای تیمار شده، کاهش معنی‌داری با شاهد نشان دادند. هرچند فعالیت گلوتاتیون- اس- ترانسفراز تحت تاثیر اسانس‌ها نسبت به شاهد کاهش پیدا کرد. بنابراین میتوان نتیجه گرفت که اسانس‌های مورد استفاده علاوه بر تاثیر لاروکشی، در غلظت‌های زیر کشنده می‌توانند منجر به اثر دورکنندگی و کاهش تغذیه شوند.

واژه‌های کلیدی: شب‌پره پشت الماسی، *Plutella xylustella* آویشن، رزماری

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۱۳۳۰۹۵۷۴ پست الکترونیکی: jjalali@guilan.ac.ir

مقدمه

در قرن حاضر توجه سازمان‌های جهانی به محدود کردن استفاده از سموم شیمیایی و جایگزین کردن آن‌ها با سموم کم‌خطر معطوف شده 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 (۲۰ و ۲۶). مسائل مربوط به تاثیر مخرب حشره-کش‌های شیمیایی دانشمندان را بر آن داشته تا به روش‌های جایگزین جهت مدیریت آفات بیاندیشند. یکی از این روش‌ها استفاده از حشره‌کش‌های با منشا گیاهی است که خانواده‌های Lamiaceae, Asteraceae, Meliaceae, Piperaceae و Annonaceae این توانائی‌ها را به خوبی نشان داده‌اند (۱۸). شب‌پره پشت الماسی از شایع‌ترین و مضرترین آفات گیاهان چلیپاییان در بیشتر کشورهای جهان است. در سال ۱۳۸۷ در استان تهران حالت طغیانی پیدا کرده و خسارت زیادی وارد کرد (۴). این شب‌پره در ایران در سواحل خزر و اطراف تهران به برگ عده‌ای از

چلیپاییان به ویژه انواع کلم (کلم برگ، کلم گل و کلم قمری)، شلغم، کلزا، خردل و کروسیفرهای وحشی حمله کرده و باعث خسارت می‌شود (۳). لاروها در بیشتر قسمت‌های برگ فعالیت داشته و در تراکم بالا قادرند تمام بوته را از بین ببرند. خسارت در اواخر تابستان روی بوته-های ترد و تازه بیش‌تر از بوته‌های پیر و مسن است و در یک بوته روی جوانه مرکزی بیش‌تر از برگ‌های جانبی می‌باشد (۲). با توجه به این‌که این آفت جهانی بوده و اولین آفتی است که به د.د.ت مقاوم شد و اکنون به بسیاری از حشره کش‌های مصنوعی نیز مقاوم شده است (۲۸)، لزوم کنترل آن از طریق روش‌های دیگری چون استفاده از عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی قابل بررسی است. در این تحقیق اثر اسانس دو گیاه دارویی از خانواده نعناعیان Lamiaceae که یکی از مهم‌ترین خانواده‌های گیاهان دارویی ایران محسوب می‌شود روی برخی پارامترهای فیزیولوژیک شب‌پره پشت الماسی بررسی شد.

مواد و روشها

تهیه اسانس‌های گیاهی: دو گیاه دارویی از خانواده نعناعیان شامل رزماری Rosmarinus *officinalis* L. و آویشن *Thymus vulgaris* L. از گلکده مارانتا (رامسر) تهیه شد. گیاهان در زمان قبل از گلدهی جمع‌آوری شده با آب شسته شده و سپس در سایه خشک و توسط آسیاب برقی، آسیاب شدند. جهت اسانس‌گیری از دستگاه اسانس گیری (کلونجر) استفاده شد. این دستگاه با تقطیر جزء به جزء، اسانس روغنی را از گیاه جدا می‌کند. هر بار داخل بالون 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 به دست آمده، از سولفات سدیم استفاده شد که یک ماده جاذب رطوبت است.

آزمایش‌های زیست‌سنجی: برای انجام پژوهش، لاروهای سنین مختلف از مزارع جمع‌آوری و در شرایط آزمایشگاهی در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و ۷۵ درصد رطوبت نسبی و ۸ ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی روی کلزا رقم اپرا در ظروف مخصوص، پرورش یافت. پس از پرورش یک نسل لاروهای سن سوم نسل بعد پس از همسن سازی برای آزمایش‌های مختلف در نظر گرفته شد.

دیسک‌های برگی کلزا تحت تاثیر غلظت‌های مختلف اسانس‌های رزماری و آویشن تیمار و در اختیار لاروهای سن سوم قرار داده شد و محدوده غلظت‌ها با آزمون مقدماتی (bracketing) مشخص شدند. بالاترین و پایین‌ترین غلظت موثر تعیین شده و با استفاده از فاصله لگاریتمی، غلظت‌های حدواسط انتخاب شدند. سپس آزمون نهایی برای تعیین LC_{50} در ۴ تکرار و هر تکرار با ۱۰ عدد لارو سن سه با طول عمر کمتر از ۲۴ ساعت انجام شد. اسانس‌های مورد نظر در متانول حل شده و سپس هر یک از دیسک‌های برگ کلزا به قطر ۶ سانتی‌متر به مدت ۱۰ ثانیه در محلول غوطه‌ور شدند و سپس داخل پتری قرار داده شد. جهت جلوگیری از دست دادن رطوبت برگ و همچنین فرار لاروها درب پتری با پارافیلم مسدود شد. در تمام آزمایش‌ها از شاهد که فقط با متانول تیمار شده بود، استفاده شد. پس از شروع آزمایش هر ۲۴ ساعت یک بار میزان تلفات یادداشت برداری شد و آزمایش تا ۷۲ ساعت ادامه داشت.

بررسی تاثیر اسانس‌های گیاهی مورد مطالعه روی شاخص‌های تغذیه: جهت ارزیابی اثر اسانس‌های گیاهان روی شاخص‌های تغذیه غلظت‌های زیر کشنده LC_{10} ، LC_{30} مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت تعیین وزن لاروها و غذای باقیمانده و فضولات از ترازوی حساس با دقت ۰/۱ میلی‌گرم استفاده شد. آزمایش در ۴ تکرار و در هر تکرار از ۱۰ عدد لارو سن چهارم تازه ظاهر شده (کمتر از ۲۴ ساعت) که به مدت ۴ ساعت گرسنه نگه داشته شده بودند تا محتویات معده آنها خالی شود استفاده شد و برای هر

غلظت یک شاهد تیمار شده با متانول در نظر گرفته شد. دیسک‌های برگی به قطر ۸ سانتی‌متر داخل غلظت‌های مورد نظر به مدت ۲۰ ثانیه غوطه ور و وزن اولیه آنها یادداشت شد و سپس لاروها وزن شدند و به آنها اجازه داده شد تا از برگ تغذیه کنند. پس از گذشت ۲۴ ساعت برگ‌های باقیمانده خارج و با برگ‌های تازه تیمار شده جایگزین شد. در انتهای هر روز برگ‌های باقیمانده وزن و در آون در دمای ۶۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت خشک و دوباره وزن شدند تا بتوان به این طریق وزن خشک غذای مصرف شده را بدست آورد. فضولات تولید شده در انتهای هر روز جمع آوری شدند. سپس در آون خشک شده و وزن شدند. لاروها در انتهای آزمایش توزین شدند و تلفات لاروها یادداشت شد. در انتهای آزمایش لاروها در آون خشک و جهت تعیین وزن خشک لاروهای مورد استفاده دوباره توزین شدند. آزمایش به مدت ۳ روز ادامه یافت و مشاهدات در انتهای هر روز یادداشت شد. برای تعیین شاخص‌های تغذیه از فرمول های ارائه شده توسط ولدبائر استفاده شد (۳۳).

قابلیت هضم نسبی(AD)

Approximately Digestibility (AD) = $[(W_i - W_f)/ W_i] \times 100$

W_i= وزن خشک غذای خورده شده به ازای هر لارو پس از زمان t (mg)

W_f= وزن خشک فضولات تولید شده (mg)

کارآیی تبدیل غذای خورده شده به بیوماس حشره (ECI)

Efficacy of Conversion of Ingested Food (ECI) = $[(W_t - W_o)/ W_i] \times 100$

W_o= وزن خشک اولیه حشره قبل از تغذیه (mg)

W_t= وزن خشک حشره پس از تغذیه از رژیم غذایی در مدت T_t (mg)

کارآیی تبدیل غذای هضم شده (ECD)

Efficacy of Conversion of Digested Food (ECD) = $[(W_t - W_o)/ (W_i - W_f) \times 100$

نرخ مصرف نسبی (RCR)

Ralative Consumption Rate (RCR) = $W_i/(T_t \times W_O)$

T_t= زمان تغذیه حشره از غذا (روز)

نرخ رشد نسبی (RGR)

Relative Growth Rate (RGR) =$(W_t - W_o)/(T_t \times W_O)$

بررسی فعالیت دورکنندگی اسانس‌های گیاهی: جهت بررسی اثر دورکنندگی اسانس‌های گیاهی آویشن و رزماری از روش اسمیت و همکاران (۳۰) با اندکی تغییر استفاده شد. دو سمت یک ظرف پلاستیکی مکعبی شکل درپوش‌دار به حجم ۶۵ میلی‌متر سوراخی تعبیه شد و هر سوراخ با کمک یک لوله پلاستیکی به قطر ۳ میلی‌متر و طول ۲ سانتی‌متر به ظرف پلاستیکی دیگر با همان ابعاد متصل شد به طوری که حرکت لاروها از ظرف میانی به ظروف جانبی از طریق لوله های رابط به سهولت امکان پذیر باشد. برای بررسی فعالیت دورکنندگی اسانس‌های مورد نظر روی لاروهای سن سوم شب پره دو غلظت زیرکشنده LC_{30}, LC_{10} اسانس انتخاب شد. در دو ظرف طرفین ظرف وسط دیسک های برگی از کلزا گذاشته شد. در ظرف شاهد برگ فقط با ۱ میلی‌لیتر متانول و برای ظرف تیمار هم برگ با دو غلظت LC_{30}, LC_{10} اسانس‌های مورد نظر آغشته شده بود. این آزمایش در ۵ تکرار و در هر تکرار تعداد ۱۰ عدد لارو سن سوم که به مدت ۳ ساعت گرسنه نگهداری شده بودند، در ظرف میانی رها شد. پس از ۲۴ ساعت تعداد حشرات در هر ظرف شمارش و درصد دورکنندگی فرمولاسیون اسانس طبق فرمول زیر محاسبه شد (۲۱).

Repellency (%) = $((C - E)/T) \times 100$

C= تعداد لارو در ظرف شاهد

E= تعداد لارو در ظرف تیمار

T= تعداد کل لارو

آماده‌سازی نمونه‌ها جهت بررسی تاثیر اسانس‌های گیاهی روی برخی از ترکیبات بیوشیمیایی: برای انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی از لاروهای سن سوم شب پره پشت الماسی که به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت از برگ‌های تیمارشده با غلظت LC_{50} اسانس‌های گیاهی مورد نظر تغذیه کرده بودند، استفاده شد. برای استخراج آنزیم‌ها از کل بدن استفاده شد. به این صورت که کل بدن لارو تیمار شده با استفاده از هموژنایزر دستی هموژنایز شده و سپس در ۱۳۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شده و بخش رونشین حاصل مورد استفاده قرار گرفته شد.

اندازه‌گیری پروتئین کل: جهت اندازه‌گیری پروتئین کل از روش لوری (۲۳) استفاده شد.

اندازه‌گیری میزان تری گلیسرید: برای اندازه‌گیری میزان تری گلیسرید از روش فوستی و پرنسیب (۱۱) استفاده شد. ۱۰۰ میکرولیتر معرف و ۲۰ میکرولیتر از محلول رونشین حاصل از سانتریفیوژ در پلیت الیزا ریخته شد و ۲۰ دقیقه بعد از انکوبه شدن در طول موج ۵۴۵ نانومتر قرائت شد. جهت بلانک به جای نمونه از ۲۰ میکرولیتر آب مقطر استفاده شد. چربی کل با استفاده از منحنی استاندارد تری گلیسرید تعیین شد.

اندازه‌گیری فعالیت آلفاآمیلاز: برای اندازه‌گیری میزان آمیلاز از روش برن فلد (۷) استفاده شد.۴۰ میکرولیتر بافر فسفات و ۱۵ میکرولیتر نشاسته ۱ درصد به عنوان سوبسترای آمیلاز و ۱۰ میکرولیتر از نمونه اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه در دمای ۳۵ درجه سلسیوس انجام شد. سپس ۶۰ میکرولیتر معرف رنگی DNS اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه جوشانده شد و در طول موج ۵۴۰ نانومتر خوانده شد.

اندازه گیری فعالیت پروتئاز: برای اندازه‌گیری میزان پروتئاز از روش کوهن (۱۰) استفاده شد.۸۰ میکرولیتر از بافر محلول فسفات و ۴۰ میکرولیتر از سوبسترای هموگلوبین در پلیت ریخته و ۲۰ میکرولیتر از نمونه اضافه شد و به مدت ۱۲۰ دقیقه انکوبه شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر TCA (تری کلرواستیک اسید) ۳۰ درصد اضافه شد و به مدت ۵ دقیقه در ۱۳۰۰۰ دور سانتریفیوژ شده و سپس میزان جذب (OD) در طول موج ۳۴۰ نانومتر خوانده شد.

اندازه گیری فعالیت لیپاز: برای اندازه‌گیری میزان لیپاز از روش سوجیتا و همکاران (۳۲) استفاده شد. ۴۰ میکرولیتر محلول بافر فسفات و ۱۰ میکرولیتر (P- نیتروفنیل بوتیرات) به عنوان سوبسترای لیپاز و ۱۰ میکرولیتر از نمونه به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه شد بعد از آن ۶۰ میکرولیتر NaOH اضافه و در طول موج‌های ۴۵۰،۴۰۵ و ۴۹۲ خوانده و ثبت شد.

اندازه‌گیری فعالیت آلکالین فسفاتاز: برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز از روش ارائه شده توسط بسی و همکاران (۸) استفاده شد. ۵۰ میکرولیتر محلول بافر فسفات با اسیدیته ۸ و ۳۰ میکرولیتر از آنزیم p- (nitrophenyl phosphate) به عنوان سوبسترا اضافه و ۱۵ میکرولیتر از نمونه به آن اضافه شد و در طول موج ۴۰۵ نانومتر قرائت شد.

اندازه‌گیری فعالیت گلوتاتیون اس ترانسفراز: برای اندازه‌گیری میزان فعالیت گلوتاتیون اس ترانسفراز از روش اپنورچ (۲۴) استفاده شد. ۱۰ میکرولیتر گلوتاتیون احیا شده و ۲۰ میکرولیتر CDNB در پلیت الیزا اضافه شده و ۴۰ میکرولیتر از نمونه به آن اضافه شد و در طول موج ۳۴۰ نانومتر به مدت ۱ دقیقه به فاصله هر ۱۰ ثانیه یکبار قرائت شد.

تجزیه آماری: نتایج حاصل از آزمون زیست سنجی با استفاده از نرم افزار POLO-PC مشخص شد. تجزیه تحلیل حاصل از این سری آزمون‌ها برای دستیابی به حداقل

اختلاف معنی‌دار در داده‌های مربوط، از طرح کاملاً تصادفی با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای توکی در سطح ۵ درصد با نرم افزار SAS انجام شد. داده‌ها قبل از وارد کردن به SAS با استفاده از نرم افزار EXCEL نسخه (۲۰۰۷) مرتب شدند.

نتایج

جدول۱- تخمین میزان غلظت LC_{50},LC_{30},LC_{10} اسانس آویشن، رزماری

اسانس گیاهی	LC_{10} (%) (محدوده اطمینان ۹۵٪)	LC_{30} (%) (محدوده اطمینان ۹۵٪)	LC_{50} (%) (محدوده اطمینان ۹۵٪)
آویشن	۰/۰۱۲۹ (۰/۰۰۰۶ – ۰/۰۳۹۴)	۰/۰۶۳۸ (۰/۰۰۳۵ – ۰/۱۵۳۴)	۰/۳۲۵ (۰/۰۷۴۸ – ۰/۵۶۶۸)
رزماری	۰/۰۵۱۳ (۰/۰۱۴۶ – ۰/۱۵۴۸)	۰/۳۷۲ (۰/۱۵۶۷ – ۰/۳۸۴۹)	۱/۱۹۸ (۰/۷۷۹۹ – ۱/۸۵۸۳)

جدول ۲- برآورد غلظت کشنده ۵۰ درصد، محدوده اطمینان ۹۵ درصد و پارامترهای خطوط دز پاسخ لاروهای سن سوم شب پره پشت الماسی به اسانس‌های گیاهی مختلف و مقایسه سمیت نسبی هر کدام از اسانس‌ها نسبت به اسانس آویشن

اسانس گیاهی	تعداد دز	LC_{50} (%) (محدوده اطمینان ۹۵٪)	سمیت نسبی (محدوده اطمینان ۹۵٪)	شیب خط ±SE	χ^2(df)
آویشن	۶	۰/۳۲۵۲ (۰/۷۴۸ – ۰/۵۶۶۸۴)	D	۰/۷۴۰ ± ۰/۲۵۲	۴ (۰/۴۷۵)
رزماری	۶	۱/۱۹۸ (۰/۷۷۹ – ۰/۸۵۸۳)	۳/۶۵۲* (۱/۷۴۳ – ۷/۰۰۱)	۱/۰۴۹ ± ۰/۱۹۲	۴ (۰/۴۴۹)

D به عنوان اسانس مورد مقایسه

* از لحاظ آماری در سطح ۵ درصد LC_{50} اسانس رزماری با اسانس آویشن اختلاف معنی‌داری دارند.

مقایسه سمیت نسبی اسانس‌های گیاهی رزماری و آویشن علیه لاروهای سن سوم شب‌پره پشت الماسی: بین دو اسانس گیاهی مورد مطالعه اسانس آویشن دارای کمترین LC_{50} بود. نتایج نشان داد اسانس آویشن با اسانس رزماری دارای اختلاف معنی دار بود و LC_{50} آویشن ۳/۶۵۲ برابر رزماری می‌باشد (جدول ۲).

تاثیر اسانس‌های گیاهی رزماری و آویشن روی دور-کنندگی تغذیه: نتایج تجزیه واریانس حاصل از اثر سمیت حاد اسانس‌های گیاهی مورد مطالعه روی لارو سن سوم شب پره پشت الماسی در جدول ۱ نشان داده شده است. بیشترین میزان LC_{50} (۱/۱۹ درصد) مربوط به اسانس رزماری و کمترین آن مربوط به اسانس آویشن (۰/۳۲ درصد) بدست آمد.

دورکنندگی اسانس‌های گیاهی روی لارو سن سوم شب‌پره پشت الماسی نشان داد که درصد دورکنندگی اسانس‌های گیاهی در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری دارد (جدول ۳). نتایج نشان داد که اسانس آویشن روی لارو سن ۳ با میزان ۴/۵۱ ± ۵۶/۰۵ در غلظت LC_{30} دارای بیشترین میزان درصد دورکنندگی می‌باشد و اسانس رزماری در غلظت LC_{10}۴/۴۲ ± ۲۷/۲ کمترین درصد دورکنندگی را دارا می‌باشد ($F=7.93$, $df=3, 19$ $p<0.001$).

ارزیابی تاثیر اسانس‌های گیاهی رزماری و آویشن روی شاخص کارآیی تغذیه در لارو سن چهارم شب پره پشت الماسی:

تاثیر اسانس‌های گیاهی رزماری و آویشن بر شاخص قابلیت هضم نسبی (AD): نتایج حاصل از تاثیر اسانس-های گیاهی بر شاخص قابلیت هضم نسبی در لاروهای سن ۴ تیمار شده درجدول ۴ و ۵ نشان داده شده است. در غلظت زیر کشنده LC_{10} تفاوت معنی‌داری بین تیمارها و شاهد وجود نداشت. این شاخص با افزایش غلظت در تیمارها نسبت به شاهد افزایش داشت، البته این افزایش در مورد اسانس آویشن در غلظت LC_{30} به میزان (۲/۳۶ ± ۷۳/۰۷) نسبت به شاهد به میزان (۴/۳۴ ± ۵۱/۷۴) درصد معنی‌دار شد. ($F=7.35, df=2 , 11, p<0.001$).

جدول ۳- میانگین درصد دور کنندگی ± خطای معیار اسانس‌های گیاهی

اسانس گیاهی	میانگین درصد دورکنندگی ± خطای معیار اسانس‌های گیاهی	
	LC_{10}	LC_{30}
آویشن	۴۳/۷۲ ± ۳/۸۵ab	۵۶/۰۵ ± ۴/۵۱a
رزماری	۲۷/۲ ± ۴/۴۲b	۴۰/۶ ± ۰/۳۱ab

میانگین‌های با حروف مشابه اختلاف معنی داری با هم ندارند ($Tukey, p<0.05$).

جدول ۴- تاثیر غلظت زیر کشنده LC_{10} اسانس‌های گیاهی مورد مطالعه روی شاخص‌های تغذیه شب‌پره پشت الماسی

اسانس گیاهی	AD%	ECD%	ECI%	RCR mg/mg/day	RGR mg/mg/day
شاهد	۵۱/۷۴ ± ۴/۳۴a	۱۷/۳۶ ± ۲/۹۵a	۸/۵۱ ± ۰/۹۳a	۳۲/۷۳ ± ۱/۳۹ a	۲/۸۳ ± ۰/۴۰a
آویشن	۵۸/۸۵ ± ۵/۳۸a	۸/۸۰ ± ۰/۹۰b	۵/۱۱ ± ۰/۳۹b	۲۶/۹۵ ± ۲/۱۰b	۱/۳۸ ± ۰/۱۷b
رزماری	۵۶/۳۴ ± ۱/۵۸a	۷/۹۲ ± ۰/۶۳b	۴/۲۶ ± ۰/۲۴b	۳۲/۳۷ ± ۰/۸۶a	۱/۳۸ ± ۰/۱۱b

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون اختلاف معنی داری با هم ندارند ($Tukey, p<0.05$).

جدول ۵- تاثیر غلظت زیر کشنده LC_{30} اسانس‌های گیاهی مورد مطالعه روی شاخص‌های تغذیه شب‌پره پشت الماسی

اسانس گیاهی	AD%	ECD%	ECI%	RCR mg/mg/day	RGR Mg/mg/day
شاهد	۵۱/۷۴ ± ۴/۳۴b	۱۷/۳۶ ± ۲/۹۵a	۸/۵۱ ± ۰/۹۳a	۳۲/۷۳ ± ۱/۳۹ a	۲/۸۳ ± ۰/۴۰۷a
آویشن	۷۳/۰۷ ± ۲/۳۶a	۶/۶۲ ± ۰/۶۲b	۴/۹۱ ± ۰/۴۰b	۲۳/۷۷ ± ۱/۳۳b	۱/۱۶ ± ۰/۱۱۶b
رزماری	۶۰/۰۱ ± ۱/۶۱b	۶/۷۸ ± ۰/۴۴b	۴/۵۵ ± ۰/۱۷b	۳۰/۸۳ ± ۳/۳۲ab	۱/۲۳ ± ۰/۰۸۵b

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون اختلاف معنی داری با هم ندارند ($Tukey, p<0.05$).

تاثیر اسانس‌های گیاهی رزماری و آویشن بر کارآیی تبدیل غذای خورده شده به بیوماس حشره (ECI): نتایج حاصل از تجزیه آماری نشان می‌دهد که با کاربرد اسانس شاخص بازدهی تبدیل غذای خورده شده لارو شب‌پره پشت الماسی تنها پس از گذشت ۳ روز تغذیه در غلظت-های زیر کشنده LC_{30} و LC_{10} به طور معنی‌داری نسبت به شاهد کاهش یافت (جدول های ۴ و ۵). با توجه به نتایج حاصل از آزمایش، غلظت LC_{30} اسانس رزماری به

میزان ۰/۲۴ ± ۴/۲۶ کمترین بازده تبدیل غذای خورده شده به بیوماس حشره را دارا می‌باشد (F=17.51, df=2, 11, p<0.0008). بیشترین میزان شاخص در شاهد به میزان ۰/۹۳ ± ۸/۵۱ درصد بدست آمد. در غلظت LC_{10} بین شاخص ECI در تیمارهای آویشن و رزماری اختلاف معنی‌داری با شاهد وجود داشت (F=20.25, df=2, 11, p<0.0005).

تاثیر اسانس‌های گیاهی رزماری و آویشن بر کارآیی تبدیل غذای هضم شده (ECD): نتایج حاصل از تاثیر اسانس‌های گیاهی بر شاخص کارآیی تبدیل غذای هضم شده به بیوماس حشره در جدول های ۴ و ۵ ارائه شده است. نتایج حاصل از تجزیه آماری شاخص بازده تبدیل غذای هضم شده نشان داد که کاربرد اسانس روی لارو شب‌پره پشت الماسی در مدت زمان ۳ روز پس از تغذیه، به طور معنی‌داری نسبت به شاهد باعث کاهش این شاخص شده است. این شاخص در تیمار شاهد با ۲/۹۵ ± ۱۷/۳۶ درصد بیشتر از سایر تیمارها است و کمترین میزان شاخص مربوط به اسانس آویشن در غلظت LC_{30} به میزان ۰/۶۱۵ ± ۶/۶۲ درصد می‌باشد (F=17.03, df=2, 11, p<0.0009).

تاثیر اسانس‌های گیاهی رزماری و آویشن برنرخ مصرف نسبی (RCR): نتایج حاصل از تأثیر اسانس‌های گیاهی بر نرخ مصرف روزانه غذا در لاروهای تیمارشده در جدول۴ و ۵ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که کاربرد اسانس‌های گیاهی باعث کاهش این نرخ نسبت به شاهد شده است. البته این شاخص در مورد اسانس رزماری معنی‌دار نمی باشد. تجزیه واریانس آماری نشان داد که اسانس آویشن در دو غلظت LC_{30} و LC_{10} با شاهد اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد دارد (F=6.03, df=2, 11, p<0.0218). در غلظت LC_{30} بیشترین میزان این نرخ در تیمار شاهد (۱/۳۹ ± ۳۲/۷۳) و کمترین مقدار در تیمار اسانس آویشن (۱/۳۳ ± ۲۳/۷۷) میلی‌گرم غذای خورده شده به ازای هر میلی‌گرم وزن بدن حشره بدست آمد (F=5.84, df=2, 11, p<0.023).

تاثیر اسانس‌های گیاهی رزماری و آویشن بر نرخ رشد نسبی (RGR): در لاروهای سن ۴ تیمارشده با دو غلظت زیر کشنده اسانس‌های گیاهی، نرخ رشد نسبی غذا در مدت ۳ روز پس از تغذیه در مقایسه با شاهد کاهش یافت (در جدول ۴ و ۵). در غلظت LC_{30} بیشترین نرخ رشد نسبی در شاهد (۰/۴۰ ± ۲/۸۳) میلی‌گرم به ازای هر میلی-گرم وزن حشره و کمترین مقدار در تیمار اسانس آویشن (۰/۱۱ ± ۱/۱۶) تعیین شد (F=19.83, df=2, 11, p<0.0005). در غلظت LC_{10} نتایج حاصل از تجزیه واریانس آماری نشان داد که بین تیمارهای اسانس آویشن و رزماری از نظر آماری در سطح ۵ درصد اختلاف معنی-داری با تیمار شاهد وجود دارد (F=14.41, df=2, 11, p<0.0016).

تاثیر اسانس‌های گیاهان رزماری و آویشن بر ویژگی‌های بیوشیمیایی لاروهای شب پره پشت الماسی

تاثیر اسانس‌های گیاهان رزماری و آویشن بر مقدار پروتئین کل: نتایج حاصل از اندازه گیری میزان پروتئین در لاروهای سن سوم تیمار شده با اسانس‌های گیاهی ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تیمار با غلظت LC_{50} در جدول ۶ ارائه شده است. میانگین میزان پروتئین در تیمارهای اسانس آویشن و رزماری نسبت به تیمار شاهد کاهش داشت که این کاهش در مورد اسانس آویشن معنی دار بود. بعد از گذشت مدت زمان ۴۸ ساعت بعد از تیمار اسانس‌های گیاهی میانگین میزان پروتئین نسبت به ۲۴ ساعت افزایش معنی‌داری داشت. کمترین میزان آن مربوط به اسانس آویشن (۱/۱۲ ± ۳۲/۲۶) ۲۴ ساعت بعد از تیمار (F=38.09, df=2, 8, p<0.0004) و بیشترین میزان مربوط به شاهد ۲/۸۱ ± ۶۲/۵۹ (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) ۴۸ ساعت بعد از تیمار بدست آمد (F=15.20, df=2, 8, p<0.0045).

تاثیر اسانس‌های گیاهان رزماری و آویشن روی میزان تری گلیسیرید: میزان تری گلیسیرید کل در لاروهای تیمار شده با غلظت LC_{50} اسانس‌های گیاهی، ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تیمار در جدول ۷ نشان داده شده است. بیشترین مقدار تری گلیسیرید در مدت زمان ۲۴ ساعت بعد از تیمار مربوط به تیمار شاهد (۱/۲۹۹ ± ۰/۱۵۲) (F=5.91, df=2, 8, p<0.038) و کمترین میزان آن مربوط به تیمار اسانس آویشن (۰/۸۵۹ ± ۰/۰۱۶۲ میلی‌گرم بر میلی لیتر)، ۴۸ ساعت بعد از تیمار بود (F=16.32, df=2, 8, p<0.0037). نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد اختلاف معنی-داری در سطح ۵ درصد بین تیمارها با شاهد وجود دارد. با گذشت زمان میزان تری‌گلیسیرید در تیمار اسانس‌ها کاهش داشت البته این کاهش از نظر آماری معنی‌داری نبود.

جدول۶- میانگین میزان پروتئین (mg/ml) لاروهای سن سوم تیمار شده با غلظت LC_{50} اسانس‌های گیاهی ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تیمار

مدت زمان تیمار(ساعت) اسانس گیاهی	۲۴ h	۴۸ h
شاهد	۴۹/۱۲ ±۱/۶۳aB	۶۲/۵۹ ± ۲/۸۱aA**
آویشن	۳۲/۲۶ ± ۱/۱۲bB	۴۰/۸۹ ± ۶/۰۵bA*
رزماری	۴۷/۳۹ ± ۱/۲۵aB	۵۶/۳۱ ± ۰/۵۰۱aA**

میانگین‌های با حروف بزرگ مشابه در هر ردیف اختلاف معنی دار با هم ندارند (t-test, p<0.05). *و** به ترتیب احتمال معنی داری در سطح ۵ و ۱ درصد. میانگین‌های با حروف کوچک مشابه در هر ستون اختلاف معنی داری با هم ندارند (Tukey, p<0.05).

جدول۷- میانگین میزان تری گلیسیرید (mg/ml) روی لاروهای سن سوم تیمار شده با غلظت LC_{50} اسانس‌های گیاهی ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تیمار

مدت زمان تیمار(ساعت) اسانس گیاهی	۲۴ h	۴۸ h
شاهد	۱/۲۹۹ ± ۰/۱۵۲a	۱/۲۸۷ ± ۰/۰۲۸۹a
آویشن	۰/۸۸۳ ± ۰/۰۲۲۴b	۰/۸۵۹ ± ۰/۰۱۶۲b
رزماری	۰/۹۷۸ ± ۰/۰۳۰۲ab	۰/۹۴۳ ± ۰/۰۵۱۹b

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون اختلاف معنی داری با هم ندارند (Tukey, p<0.05).

جدول۸- میانگین فعالیت آلفا آمیلاز (nmol/min/mg protein) روی لاروهای سن سوم تیمار شده با غلظت LC_{50} اسانس‌های گیاهی ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تیمار

مدت زمان تیمار(ساعت) اسانس گیاهی	۲۴ h	۴۸ h
شاهد	۲/۱۵ ± ۰/۰۳۵aB	۲/۹۱ ±۰/۱۵aA*
آویشن	۰/۶۵۷ ± ۰/۰۵۸bB	۱/۷۵ ± ۰/۰۱۸bA**
رزماری	۲/۶۲ ± ۰/۱۲aA**	۰/۳ ± ۰/۰۳۳cB

میانگین‌های با حروف بزرگ مشابه در هر ردیف اختلاف معنی‌دار با هم ندارند (t-test, p<0.05). *و** به ترتیب احتمال معنی‌داری در سطح ۵ و ۱ درصد. میانگین‌های با حروف کوچک مشابه در هر ستون اختلاف معنی‌داری با هم ندارند (Tukey, p<0.05).

تاثیر اسانس‌های گیاهان رزماری و آویشن روی فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز: میزان آلفا آمیلاز در لاروهای تیمار شده با غلظت LC_{50} اسانس‌های گیاهی، ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تیمار در جدول ۸ نشان داده شده است. در مورد اسانس رزماری بعد از ۲۴ ساعت میزان آنزیم بیشتر از شاهد بوده است(F=40.21, df=2, 8, p<0.0003). اما میزان آنزیم در تیمار اسانس آویشن ۲۴ ساعت پس از تیمار به طور معنی داری نسبت به شاهد کاهش یافته است. بیشترین میزان این

آنزیم مربوط به شاهد (۰/۱۵± ۲/۹۱ نانومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین) و کمترین آن مربوط به اسانس رزماری (۰/۰۳۳ ± ۰/۳ نانومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین)، ۴۸ ساعت بعد از تیمار می‌باشد (F=82.33, df=2, 8, p<0.0001).

تاثیر اسانس‌های گیاهان رزماری و آویشن روی فعالیت آنزیم پروتئاز: فعالیت آنزیم پروتئاز لارو شب پره پشت الماسی تیمار شده با اسانس‌های گیاهی ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تیمار در جدول ۹ نشان داده شده است. بیشترین فعالیت این آنزیم مربوط به شاهد (۳/۰۱ ± ۳۵/۳۲ میکرومول بر دقیقه بر میلی گرم پروتئین) ۲۴ ساعت بعد از تیمار (F=9.58, df=2, 8, p<0.013) و کمترین آن مربوط به اسانس آویشن (۰/۰۰۱۹ ± ۰/۰۲۳۳) ۴۸ ساعت بعد از تیمار بود (F=12.99, df=2, 8, p<0.0066). میزان فعالیت آنزیم بین اسانس با شاهد اختلاف معنی دار وجود دارد. بعد از گذشت زمان کاهش معنی‌داری در تیمارها مشاهده شد البته در مورد اسانس آویشن این کاهش معنی‌دار نمی باشد.

تاثیر اسانس‌های گیاهان رزماری و آویشن روی فعالیت آنزیم لیپاز: میزان فعالیت لیپاز لاروهای سن سوم تیمار شده با غلظت LC_{50} اسانس‌های گیاهی، ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تیمار در جدول ۱۰ نشان داده شده است. فعالیت این آنزیم بین اسانس‌ها و ساعات مختلف تیمار، اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با شاهد دارد. بیشترین فعالیت مربوط به اسانس آویشن (۰/۰۱۳ ± ۰/۳۳۹ نانومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین)، ۲۴ ساعت بعد از تیمار (F=27.55, df=2, 8, p<0.0009) و کمترین آن مربوط به اسانس رزماری (۰/۰۰۵ ± ۰/۱۱۴)، ۴۸ ساعت بعد از تیمار می‌باشد. میزان فعالیت این آنزیم در همه تیمارها بعد از ۴۸ ساعت کاهش یافته است. (F=7.75, df=2, 8, p<0.0217).

جدول۹- میانگین فعالیت پروتئاز (od/min) روی لاروهای سن سوم تیمار شده با غلظت LC_{50} اسانس‌های گیاهی ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تیمار

مدت زمان تیمار(ساعت) اسانس گیاهی	۲۴ h	۴۸ h
شاهد	۳۵/۳۲ ± ۳/۰۱aA**	۲۷/۳۲ ± ۲/۸۶aB
آویشن	۱۱/۲ ± ۰/۵۸bA	۱۲/۸ ± ۱/۰۵۵bA
رزماری	۲۶/۳۳ ± ۰/۶۰abA*	۱۷/۷۲ ± ۲/۱۱bB

میانگین های با حروف بزرگ مشابه در هر ردیف اختلاف معنی دار با هم ندارند (t-test, p<0.05). *و** به ترتیب احتمال معنی‌داری در سطح ۵ و ۱ درصد. میانگین‌های با حروف کوچک مشابه در هر ستون اختلاف معنی‌داری با هم ندارند (Tukey, p<0.05)

جدول۱۰- میانگین فعالیت لیپاز (nmol/min/mg protein) روی لاروهای سن سوم تیمار شده با غلظت LC_{50} اسانس‌های گیاهی ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تیمار

مدت زمان تیمار(ساعت) اسانس گیاهی	۲۴h	۴۸h
شاهد	۰/۲۳۹ ± ۰/۰۰۲۱bA	۰/۱۴۸ ± ۰/۰۱۲abB
آویشن	۰/۳۳۹ ± ۰/۰۱۳aA	۰/۱۹۷± ۰/۰۱۸aB
رزماری	۰/۱۹۷ ± ۰/۰۱۱bA	۰/۱۱۴ ± ۰/۰۰۵bB

میانگین‌های با حروف بزرگ مشابه در هر ردیف اختلاف معنی‌دار با هم ندارند (t-test, p<0.01).

میانگین‌های با حروف کوچک مشابه در هر ستون اختلاف معنی داری با هم ندارند (Tukey, p<0.05).

تاثیر اسانس‌های گیاهان رزماری و آویشن روی فعالیت آنزیم الکالین فسفاتاز: میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در لاروهای سن سوم تیمار شده با غلظت LC_{50} ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تیمار در جدول ۱۱ نشان داده شده است. بیشترین فعالیت در شاهد (۰/۲۱۹ ± ۳/۹۷ میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین)، ۴۸ ساعت بعد از تیمار (F=69.83, df=2, 8, p<0.0001) و کمترین میزان فعالیت در اسانس رزماری (۰/۰۰۸ ± ۱/۴۸)، ۴۸ ساعت بعد از تیمار دیده شد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد بین تیمارهای اسانس رزماری و آویشن از نظر آماری با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد وجود دارد (F=5.10, df=2, 8, P<0.0508).

تاثیر اسانس‌های گیاهان رزماری و آویشن روی فعالیت آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز: میزان فعالیت گلوتاتیون اس ترانسفراز لاروهای سن سوم تیمار شده با غلظت LC_{50} اسانس‌های گیاهی، ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تیمار در جدول ۱۲ نشان داده شده است. میزان این آنزیم سم زدا در شاهد ۴۸ ساعت بعد از تیمار ۰/۱۰۶ ± ۱۵/۵۳ (میلی-گرم بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین) دارای بیشترین میزان می‌باشد. میزان این آنزیم بعد از ۴۸ ساعت در اسانس‌های آویشن و رزماری کاهش معنی‌داری در سطح یک درصد نشان می‌دهد (F=273.62, df=2, 8, p<0.0001). در ۲۴ ساعت بین تیمار آویشن با شاهد اختلاف معنی‌دار وجود دارد (F=11.27, df=2, 8, p<0.0093)

جدول ۱۱- میانگین فعالیت آلکالین فسفاتاز (mmol/min/mg protein) روی لاروهای سن سوم تیمار شده با غلظت LC_{50} اسانس‌های گیاهی ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تیمار

مدت زمان تیمار(ساعت) اسانس گیاهی	۲۴h	۴۸h
شاهد	۲/۲۴ ± ۰/۳۶aB	۳/۹۷ ± ۰/۲۱۹aA*
آویشن	۲/۰۳ ± ۰/۰۸۵abA**	۱/۶۳ ± ۰/۱۸۲bB
رزماری	۱/۴۸ ± ۰/۰۰۸bA	۱/۴۳ ± ۰/۲۲۶bA

میانگین‌های با حروف بزرگ مشابه در هر ردیف اختلاف معنی‌دار با هم ندارند (t-test, p<0.05). *و** به ترتیب احتمال معنی‌داری در سطح ۵ و ۱ درصد. میانگین‌های با حروف کوچک مشابه در هر ستون اختلاف معنی‌داری با هم ندارند (Tukey, p<0.05).

جدول۱۲- میانگین فعالیت گلوتاتیون اس ترانسفراز (mmol/min/mg protein)روی لاروهای سن سوم تیمار شده با غلظت LC_{50} اسانس-های گیاهی ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تیمار

مدت زمان تیمار(ساعت) اسانس گیاهی	۲۴	۴۸
شاهد	۴/۴۴ ±۰/۰۲۱bB	۱۵/۵۳ ± ۰/۱۰۶a A
آویشن	۱۰/۹۳ ± ۲/۲۳aA	۷/۱۱ ± ۰/۳۱۸bB
رزماری	۷/۳۷ ± ۰/۳۱۸bA	۵/۰۳۴ ± ۰/۳۱cB

میانگین های با حروف بزرگ مشابه در هر ردیف اختلاف معنی دار با هم ندارند (t-test, p<0.01). میانگین‌های با حروف کوچک مشابه در هر ستون اختلاف معنی‌داری با هم ندارند (Tukey, p<0.05).

بحث

اثر سمیت تماسی اسانس‌های گیاهی مورد نظر روی لارو سن سوم شب پره پشت الماسی مورد بررسی قرار گرفت. مقدار مرگ و میر لاروها در مورد دو اسانس متفاوت بود. LC_{50} محاسبه شده برای لاروهای مورد نظر پس از ۷۲ ساعت از کاربرد اسانس‌های گیاهی، نشان می‌دهد که به طور معنی‌داری نسبت به اسانس آویشن حساس‌تر از رزماری هستند. در این آزمایش افزایش غلظت اسانس

گیاهی باعث افزایش مرگ و میر در جمعیت لاروها شد. نتایج حاصل از مطالعات سایر محققین (۱۶، ۲۵، ۳۰ و ۳۳) نیز موید این بود که افزایش غلظت اسانس‌های مورد مطالعه باعث افزایش میزان مرگ و میر افراد می‌شود.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان دهنده آن است که اسانس‌های گیاهی مورد استفاده روی مرحله مورد نظر دارای اثرات دورکنندگی نیز می‌باشد، بنابراین می‌توان با استفاده از غلظت‌های زیرکشنده اسانس‌ها باعث دور کردن حشره مورد نظر شد. بیشترین درصد دورکنندگی در بالاترین غلظت مشاهده شد. در واقع علت دور کنندگی را می‌توان تحریک سیستم بویایی تحت تاثیر اسانس دانست. خاصیت دورکنندگی اسانس‌ها مربوط به نوع ترکیبات آن‌ها است اما اثر سینرژیستی که در بین ترکیبات وجود دارد اثر افزایشی را در عملکرد نسبت به هر یک از ترکیبات به تنهایی نشان می‌دهد (۱۲ و ۱۷). گاهی این اثر سینرژیستی مربوط به ترکیباتی است که درصد بسیار کمی از اسانس را تشکیل می‌دهند. چون همگی این ترکیبات به صورت دسته جمعی نقش دفاع را در گیاه بر عهده دارند و به صورت انفرادی عمل نمی‌کنند (۷).

در این آزمایش غذای تیمار شده با غلظت‌های زیر کشنده LC_{10}, LC_{30} اسانس‌های گیاهی مورد نظر در اختیار لارو سن چهارم شب پره پشت الماسی قرار داده شد و با اندازه‌گیری شاخص‌های تغذیه‌ای در حشره شامل نرخ رشد نسبی، نرخ مصرف نسبی، شاخص کارآیی تبدیل غذای خورده شده، شاخص کارایی تبدیل غذای هضم شده و شاخص تقریبی هضم شوندگی اندازه گیری شد. این بررسی نشان داد که تمامی شاخص‌ها در غذای تیمار شده نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری وجود دارد. البته به غیر از شاخص تقریبی هضم شوندگی که در شاهد با لاروهای تیمار شده افزایش مشاهده شد. این افزایش احتمالاً به این دلیل است که لاروها با مصرف کمتر، از غذای خورده شده بیشترین استفاده را داشته‌اند ستیل ناتان و همکاران، (۲۸)

افزایش اندک شاخص قابلیت هضم نسبی را در لاروهای *Hybalae puera* Cramer تحت تیمار غلظت ۴٪ آزادیراختین گزارش کرده و بیان کردند این شاخص در لاروهای تحت تیمار ۵۶/۹۲ درصد و در لاروهای شاهد ۵۰/۱۶ درصد می‌باشد و دلیل این افزایش را طولانی شدن دوره لاروی و کاهش مصرف غذا و به دنبال آن حفظ طولانی مدت غذا در لوله گوارش حشره و در نتیجه افزایش میزان جذب ماده غذایی در لاروهای تیمار شده با عصاره می‌دانند جانسن و گروت (۱۹) بیان کردند. شاید دلیل کاهش نرخ رشد نسبی لاروهای تیمار شده، آسیب جبران ناپذیری است که به بعضی از غشاها و سلول‌های مربوط به جذب در معده وارد شده است. بسیاری از سموم حشره‌کش و اسانس‌های گیاهی دارای خواص ضد تغذیه-ای بوده و باعث کاهش راندمان تغذیه در حشرات تیمار شده می‌شوند و بنابراین مقدار برخی از ترکیبات حیاتی مانند پروتئین‌ها در بدن حشره کاهش می‌یابد و در نتیجه متابولیسم تولید انرژی دچار اختلال می‌شود (۱). در تحقیق حاضر مقدار پروتئین کل بدن لاروهای تیمار شده با غلظت LC_{50} ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تیمار اسانس‌ها مورد مطالعه قرار گرفت و نتایج نشان داد که میزان آن در تیمارها کاهش معنی‌داری را نشان داده است. البته در زمان ۴۸ ساعت میزان پروتئین در تیمار و شاهد افزایش داشته است که به دلیل مصرف بیشتر غذا و تولید بیشتر مواد ذخیره‌ای می‌باشد. دلیل کاهش پروتئین در لاروهای تیمار شده با اسانس های مورد نظر در این تحقیق این است که احتمالاً حشره با تجزیه شدید پروتئین به اسیدآمینه و وارد کردن آن به چرخه TCA به عنوان یک کتواسید، کمبود انرژی ایجاد شده و در نتیجه بروز تنش را جبران می‌کند (۲۷).

آلفا آمیلاز در برگیرنده خانواده‌ای از آندو آمیلازها هستند که هیدرولیز پیوند 1,4-a-D-Glucan را در ترکیبات نشاسته‌ای، گلیکوژن و سایر کربوهیدرات‌های وابسته انجام می‌دهند. این آنزیم‌ها نقش محوری در متابولیسم کربوهیدرات‌های وابسته انجام می‌دهند. با افزایش میزان

تغذیه و جذب غذا فعالیت آلفا آمیلاز افزایش می‌یابد (۱۴). به طوریکه با افزایش تغذیه و جذب غذا، فعالیت آنزیم نیز در بافت معده افزایش می‌یابد (۹). تفاوت فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در مراحل مختلف نشو و نمایی را می‌توان به عواملی همچون نوع و میزان تغذیه نسبت داد (۱۵). در مورد شب‌پره هندی نیز با افزایش میزان تغذیه و جذب غذا فعالیت آلفا آمیلاز افزایش می‌یابد (۵).

هیدرولیز پیوندهای پپتیدی در حشرات به عهده گروهی از آنزیم‌ها موسوم به پروتئازها است. توانایی پروتئازها در هیدرولیز پیوندهای پپتیدی با یکدیگر متفاوت است. این آنزیم‌ها اهمیت زیادی در هضم مواد غذایی دارند و پروتئین‌های غذا را به اسیدهای آمینه مورد نیاز حشره تجزیه می‌کنند. نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد میزان فعالیت آنزیم پروتئاز در لاروهای تیمار شده با غلظت‌های مختلف اسانس‌های مورد مطالعه کاهش یافته است که دارای اختلاف معنی‌داری با شاهد می‌باشد. این کاهش بدلیل مهار این آنزیم در لاروهای تیمار شده با اسانس‌های گیاهی می‌باشد. پروتئاز ۴۸ ساعت بعد از تیمار نسبت به ۲۴ ساعت کاهش نشان داد که البته معنی‌دار نبود لیو و همکاران (۲۲)، به این نتیجه رسیدند که فراکسینلون در لاروهای *Ostrinia furnacalis* Guenee، فعالیت آنزیم‌های آلفاآمیلاز و پروتئاز را کاهش داده و باعث افزایش فعالیت سیتوکروم P450 شده است. فعالیت پروتئاز در معده میانی لاروهای سفیده کوچک کلم *P. rapae* تیمار شده با ترکیب گیاهی توسندانین، به شدت کاهش یافت (۳۵).

آنزیم لیپاز باعث شکسته شدن پیوندهای کربوکسیل استر در تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها، فسفولیپیدها و گالاکتولیپیدها می شود. این گروه از آنزیم‌ها در ذخیره، استفاده و تحرک لیپیدها در حشرات نقش اساسی دارند. همچنین لیپازها زیر بنای بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی حشرات مانند رشد و نمو، تولیدمثل و دفاع در مقابل پاتوژن‌ها هستند. نتایج تحقیق حاضر، افزایش فعالیت آنزیم لیپاز را در لارو-های تیمار شده با اسانس‌های آویشن و کاهش فعالیت آن در اسانس‌های رزماری را نشان می‌دهد زیبایی و بندانی (۳۷)، نشان دادند که فعالیت آنزیم لیپاز در سن گندم Puton *Eurygater integricipes* تیمار شده با عصاره *Artemisia annua* کاهش می‌یابد. افزایش فعالیت آنزیم لیپاز بدلیل اثر آن در فعالیت استرازی و کاهش فعالیت لیپاز به سبب مهار این آنزیم بوده است.

آلکالین فسفاتازها آنزیم‌های هیدرولیز کننده هستند که جداسازی گروه‌های فسفات از انواع ملکول‌ها شامل اسید نوکلئیک، پروتئین و آلکالوئیدها را بر عهده دارند. در این بررسی میزان آلکالین فسفاتاز نسبت به شاهد کاهش یافت که با نتایج یوشیتاکه و همکاران (۳۵) مطابقت داشت. در بررسی شکاری و همکاران (۲۹) در مورد فعالیت‌های بیوشیمیایی، سطح فعالیت آلکالین فسفاتاز ۲۴ بعد از تیمار کاهش و ۴۸ ساعت بعد از تیمار بشدت افزایش نشان داد.

در این مطالعه میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون اس ترانسفراز در لاروهای تیمار شده با اسانس‌های مورد نظر در همه تیمارها بعد از ۲۴ ساعت نسبت به شاهد افزایش معنی-داری یافته است. ولی ۴۸ ساعت پس از تیمار میزان فعالیت این آنزیم در تیمارهای اسانس‌ها کاهش و بر عکس در شاهد به صورت معنی‌داری افزایش یافت. افزایش میزان گلوتاتیون اس ترانسفراز به طور طبیعی در دوران لاروی تا شفیرگی به میزان دو برابر در چرخه زندگی پشه ناقل تب زرد گزارش شده است (۱۳). دلیل افزایش فعالیت این آنزیم تولید بیشتر این آنزیم در طی این دوران است. لذا افزایش این آنزیم در حشرات شاهد در تحقیق حاضر پس از ۴۸ ساعت یک روند طبیعی دارد، اما کاهش آن در حشرات تیمار شده با اسانس منعکس کننده مهار آن توسط این اسانسها می‌باشدکه پس از افزایش اندک در ۲۴ ساعت اول سپس کاهش آن را در حشرات تیمار شده پس از ۴۸ ساعت مشاهده می‌کنیم.

حشره کشهای طبیعی امروزه جایگاه مهمی در کنترل حشرات آفت پیدا کرده‌اند. لذا لزوم معرفی منابع جدید در این عرصه بسیار حائز اهمیت خواهد بود. تحقیق حاضر نشان داد که اسانس دو گیاه دارویی مهم شامل رزماری و آویشن دارای خاصیت حشره کشی، دور کنندگی و بازدارندگی شاخصهای تغذیه در لاروهای شب پره پشت الماسی هستند. این اسانس‌ها همچنین با تاثیر روی آنزیمهای کلیدی نظیر آمیلاز، لیپاز، پروتئاز و آلکالین فسفاتاز در گوارش این حشره و با ایجاد محدودیت در تشکیل ماکرومولکولهای مهم نظیر پروتئین و ترگلیسیرید تغییرات غیر قابل برگشت حتی با استفاده از غلظت‌های زیرکشنده بجا می‌گذارند. نتایج تحقیق حاضر می‌تواند راهگشای بررسی‌های بیشتر در این عرصه جهت مبارزه با آفت شب پره پشت الماسی با استفاده از منابع گیاهی باشد.

منابع

۱ اعتباری، ک. (۱۳۸۱). تأثیر غنی‌سازی برگ توت *Morus alba* بوسیله تعدادی از ویتامین‌ها و ترکیبات نیتروژن دار بر برخی از صفات اقتصادی و خصوصیات فیزیولوژیک کرم ابریشم (*Bombyx mori* Lep., Bombycidae). پایان نامه کارشناسی ارشد حشره‌شناسی، دانشگاه صنعتی اصفهان. ۱۱۷ ص.

۲ خانجانی، م. (۱۳۸۴). آفات سبزی و صیفی ایران، انتشارات دانشگاه بوعلی سینا همدان، ۴۶۱ صفحه.

۳ زاهدی، ک.(۱۳۷۱). آفات گیاهان زینتی و صیفی ایران و روش-های مبارزه با آنها.مرکز نشر دانشگاهی تهران، ۱۴۳ صفحه.

۴ مرزبان، ر. و بنی عامری، و. (۱۳۸۳). بررسی تاثیر حشره‌کش‌های بیولوژیکی و شیمیایی در کنترل شب‌پره پشت الماسی. خلاصه مقالات شانزدهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران، دانشگاه تبریز، ۷-۱۱ شهریور ماه، صفحه ۱۸۸.

۵ یزدانیان، م.، فرشباف پورآباد، ر.، رشیدی، م. ر.، ولیزاده، م.، رشتچی زاده، ن.، وطنخواه، آ.م. و حمیدی، ع. آ. (۱۳۸۷). برخی ویژگی‌های آلفا آمیلاز بزاقی سن *Graphosoma lineatum* (L.) (Het: Scutelleridae). دانش کشاورزی، ۱۸(۳): ۲۵۹-۲۴۳.

6 Berenbaum, M. 1985. Brementown revisited: allelochemical interactions in plants. Recent Advances in Phytochemistry, 19: 139-169.

7 Bernfeld P. 1955. Amylases, α and β. Methods in Enzymology, 1:149–158.

8 Bessey, O. A., Lowry O. H. and Brock, M. J. 1946. A method for the rapid determination of alkaline phosphatase with five cubic millimeters of serum. Journal Biology Chemistry, 164: 321–329.

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

10 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.

11 Fossati, P. and Prencipe, L. 1982.Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. Clinical Chemistry, 28(10): 2077-80.

12 Gillij, Y., Gleiser, R. and Zygadlo, J. 2008. Mosquito repellent activity of essential oils of aromatic plants growing in Argentina. Bioresource Technology, 99: 2507-2515.

13 Hazelton, G.A. and Lang, C.A. 1983. Glutathion-S-transferase activity in the yellow-fever mosquito [*Aedes aegpti* (Louisville)] during growth and aging. Biochemistry Journal, 210: 281-287.

14 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.

15 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 Obihiro University, 8: 173-260.

16 Huang, Y ,.Lam, S. and 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.

17 Hummelbrunner, A. L. and Isman, M. B. 2001. Acute, sublethal, antifeedant and synergistic effects of monoterpenoid essential oil compounds on the tobacco cut worm (Lepidoptera: Noctuidae). Journal Agricultural Food Chemistry, 49, 715–720.

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

19 Jansen, B. and Groot, A. 2004. Occurrence, biological activity and synthesis of drimane sesquiterpenoids. Natural Product Reports Article, 21: 449-477.

20 Koul, O. and Dhaliwal, G. S. 2001. Phytochemical Biopesticides, Harwood Academic Publishers: Amsterdam The Netherland. 191 pp.

21 Liu, C., Mishra, A., Tan, R., Tang, C., Yang, H. and 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.

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

23 Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. Journal of Bioogical Chemistry. 193 : 265–275.

24 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.

25 Sahaf, B. Z., Moharramipour, S. and 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.

26 Sarfaraz, M., Keddie, B. and Dosdall, M. 2005. Biological control of the diamondback moth, *Plutella Xylostell:* A review. Biocontrol Science and Technology, 15: 763- 789.

27 Schoonhoven,L. M. 1982. Biological aspects of antifeedants. Entomologia Exprimentalis et Applicata, 31: 57-89.

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

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

30 Smith, C. M., Khan, Z. R. and Pathak, M. D., 1994. Techniques for evaluating insect resistance in crop plants, CRC press, Florida, USA. 319 PP.

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

32 Tsujita, T., Ninomiya, H. and Okuda, H. 1989. p-Nitrophenyl butyrate hydrolyzing activity of hormone-sensitive lipase from bovine adipose tissue. Journal of Lipid Research, 30:997–1004.

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

34 Yazdani, E., Jalali Sendi, J., Khosravi, R., Hajizadeh, J. and Mohammad Ghadamyari. 2012. 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, 1-12.

35 Yoshitake, N. Eguchi, M. and Akiyama, A. 1966. Genetic control on the alkaline phosphatase of the midgut in the silkworn. Journal of Sericulture Science Japan 35: 1-6,

36 Zhang, X. and Chiu, S.F. 1992. Effects of toosendanin on several enzyme systems of the cabbageworm *Pieris rapae* L. Acta Entomologica Sinica, 35: 171-177.

37 Zibaee, A. and Bandani, A.R. 2009. 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, 12: 1-11.

Thymus and Rosemary essential oil on toxicity and physiological parameters of diamondback moth *Plutella xylustella* L.

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

[1] Plant protection Dept., Faculty of Agriculture, University of Guilan, Rasht, I.R. of Iran

[2] Agricultural Entomology Dept., College of Agriculture, University of Tarbiate Moddarress, Tehran, I.R. of Iran

Abstract

The effects of two medicinal plants from Lamiaceae including: *Thymus vulgaris* L. and *Rosmarinus officinalis* L. on toxicity and physiological characteristics of diamond back moth *Plutella xylustella* L. were studied. Acute contact and oral toxicity on third instar larvae were estimated. The LC_{10}, LC_{30} and LC_{50} for essential oil of Rosemary and Thymus were 0.051, 0.372, 1.198 percent and 0.0129, 0.0638 and 0.325 percent respectively**.** According to the results, the highest toxicity belonged to Thymus essential oil and the lowest to Rosemary. The repellency effect under sub lethal concentrations of LC_{10} and LC_{30} of essential oils on 3rd instar larvae of diamondback moth were investigated and they were 27.2±4.42, 40.6±0.31and 43.72±3.85, 56.05±4.51 percent for Rosemary and Thymus respectively. Relative consumption rate, efficiency of conversion of ingested food, efficiency of conversion of digested food, relative digestibility and relative growth rate of the treated larvae showed significant differences compared with the control. The effectiveness of plant essential oils on digestive enzymes, total protein, triglycerides, alkaline phosphatase, protease and alpha-amylase were reduced in treated larvae compared to control. However the activity of Glutathion-s-transferase was reduced under the effect of essential oils. Hence it is concluded that the essential oils used in the present experiment not only show larvicidal effect but could show considerable changes in repellency and feeding efficiency under the effect of sublethal concentrations.

Key words: Diamondback moth, *Plutella xylustella,* Thymus, Rosemary