بسم الله الرحمن الرحیم

**دانشگاه تربیت مدرس**

**دانشکده کشاورزی**

**رساله دکتری رشته حشره شناسی کشاورزی**

# خواص حشره کشی نانوکپسول حاوی اسانس گیاه درمنه *Artemisia sieberi* روی شب پره پشت الماسی *Plutella xylostella* و شپشه آرد *Tribolium castaneum*

مریم نگهبان

**استادان راهنما:**

**دکتر سعید محرمی پور و دکتر سید علی هاشمی**

**استادان مشاور:**

**دکتر مژگان زندی و دکتر شمسعلی رضازاده**

**بهمن ۱۳۹۰**

تقدیم به:

خدایی که به من آگاهی داد

همه آن هایی که با سخاوت، عشق و عشق را نثارم کردند

آنانی که مرا صبورانه علم، ادب و هنر زیستن آموختند

مردمی که سعادتشان سعادت من است

و سرزمینی که تنها

در آن پاکی، صداقت، راست گویی و انسانیت جاودانه می ماند

**چکیده**

امروزه با استفاده از فناوری های جدید از جمله تولید فرمولاسیون نانوکپسول می توان به محدویت های کاربردی استفاده از اسانس های گیاهی غلبه کرد. لذا در این پژوهش اسانس گیاه درمنه *Artemisia sieberi* Besser با استفاده از روش پلیمریزاسیون همزمان امولسیون روغن در آب در مقیاس نانو، کپسوله شد. سپس اثرات سمی (تنفسی و تماسی)، دورکنندگی و ضد تغذیه‌ای نانوکپسول تولید شده روی لارو سن سوم شب پره پشت الماسی *Plutella xylostella* (L.) و حشرات کامل ۱ تا ۳ روزه شپشه آرد *Tribolium castaneum* (Herbst) در مقایسه با اسانس معمولی (غیر کپسوله) مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج نشان داد که سمیت تنفسی اسانس نانوکپسول شده در دزهای زیر کشنده، (بعد از گذشت ۷ روز) به طور معنی دار موثرتر از اسانس معمولی است. در زیست سنجی مربوط به سمیت تماسی اسانس علیه شب پره پشت الماسی و شپشه آرد به ترتیب روش های غوطه ور کردن برگ و غوطه ور کردن حشره در محلول تهیه شده از اسانس معمولی موثرتر از فرمولاسیون نانوکپسوله بود، در حالی که اسپری کردن اسانس نانوکپسول شده به طور معنی داری موثرتر از سایر روش‌ها بوده است. همچنین فرمولاسیون نانوکپسول توانست مدت دوام تنفسی و تماسی حشرات را به طور معنی داری افزایش دهد. نتایج به دست آمده از اثر دور کنندگی نانوکپسول نشان داد که علی رغم اثر بالای دورکنندگی اسانس معمولی در کوتاه مدت (حداکثر ۶ ساعت پس از اسانس دهی)، فرمولاسیون نانوکپسول قادر است در مدت ۲۴ ساعت به طور معنی دار برتری خود را از اسانس معمولی به اثبات برساند. همچنین فرمولاسیون نانوکپسول علاوه بر نقش بازدارندگی تغذیه، اثرات سمیت تغذیه ای اسانس را به اثبات رساند. علی رغم تفاوت های اساسی در بیولوژی، فیزیولوژی و رفتار تغذیه ای حشرات مورد آزمایش، به طور کلی روند واکنش حشرات در بسیاری موارد نسبت به اسانس نانوکپسول شده مشابه بود، لذا می توان با اطمینان بیشتری نسبت به قدرت اثر این فرمولاسیون در شرایط مختلف قضاوت نمود.

به طور کلی به نظر می رسد که یافته های این پژوهش می تواند کاربرد اسانس های گیاهی را در عمل امیدوار نماید. زیرا فناوری جدید نانوکپسول کردن اسانس از طریق رهایش کنترل شده ترکیبات موثره می تواند بسیاری از محدودیت های کاربرد اسانس های گیاهی را در کنترل حشرات آفت نه تنها در انبار بلکه در سطح مزرعه را بر طرف نماید. هرچند که لازم است مطالعات متعددی در جهت مقرون به صرفه کردن فناوری های نو انجام شود. در ضمن لازم است قابلیت های فرمولاسیون جدید نانوکپسول در محیط های طبیعی محصولات انباری، گلخانه ای و مزرعه ای مورد آزمایش قرار گیرد.

**واژه‌های کلیدی:** نانوکپسول، اسانس گیاهی، درمنه، شب پره پشت الماسی، شپشه آرد، سمیت تنفسی، سمیت تماسی، خاصیت دورکنندگی، اثرات ضدتغذیه ای

فهرست مطالب | صفحه


**فصل اول: مقدمه** ..... ۱

۱-۱-تعریف مسئله و اهمیت پژوهش ..... ۱

۱-۲- اهداف پژوهش ..... ۳

**فصل دوم: مروری بر مطالعات انجام شده** ..... ۵

۲-۱- فرمولاسیول نانو کپسول (Nanoencapsulated formulation) ..... ۵

۲-۲- تاریخچه کپسول سازی ..... ۶

۲-۳- مواد مورد استفاده در هسته و دیواره کپسول ها ..... ۶

۲-۴- روش های میکرو و نانو کپسول سازی ..... ۸

۲-۴-۱- روش خشک کردن پاششی ..... ۸

۲-۴-۲- روش تشکیل توده: ..... ۱۰

۲-۴-۲-۱- رسوبدهی به کمک نمک ..... ۱۰

۲-۴-۲-۲- ژل شدن یونی: ..... ۱۱

۲-۴-۳- امولسیون/تبخیر حلال ..... ۱۱

۲-۴-۴- روش جابجایی حلال/ رسوب در سطح تماس ..... ۱۵

۲-۴-۵- روش امولسیون/ نفوذ حلال (ESD) ..... ۱۶

۲-۴-۶- روش پلیمریزاسیون امولسیون: ..... ۱۷

۲-۴-۷- پلیمریزاسیون بین سطحی: ..... ۱۸

۲-۴-۸-پلیمریزاسیون همزمان: ..... ۱۹

۲-۹- گیاهان اسانس دار و فرمولاسیون ..... ۲۰

۲-۱۱- گیاهان مورد مطالعه ..... ۲۵

۲-۱۱-۱- گیاه درمنه (*Aretmisia sieberi*) ..... ۲۵

۲-۱۲- حشرات مورد مطالعه ..... ۲۹

۲-۱۲-۱- شب‌پره پشت الماسی *P. xylostella* ..... ۲۹

۲-۱۲-۲- شپشه آرد *T. castaneum* ..... ۳۲

**فصل سوم: :مواد و روش ها** ..... ۳۶

۳-۱- جمع‌آوری گیاه و خشک کردن نمونه مورد مطالعه ..... ۳۶

۳-۲- تهیه اسانس ..... ۳۶

۳-۳- تهیه نانوکپسول های حاوی اسانس گیاهی ..... ۳۷

۳-۴- شکل شناسی سطح نانوکپسول و توزیع اندازه ذرات ..... ۳۹

۳-۵- اندازه گیری درصد باقی مانده اسانس از نانوکپسول ..... ۳۹

۳-۶- جداسازی و شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس در نانوکپسول ..... ۴۰

۳-۷- پرورش حشرات ..... ۴۱

۳-۸- آزمایش زیست سنجی ..... ۴۱

۳-۸-۱- تعیین $LC_{50}$ سمیت تنفسی نانوکپسول حاوی اسانس درمنه روی حشرات ..... ۴۱

۳-۸-۲- بررسی دوام سمیت تنفسی اسانس نانوکپسوله و اسانس معمولی ..... ۴۲

۳-۸-۳- آزمایش بررسی سمیت تماسی نانوکپسول اسانس روی حشرات ..... ۴۳

۳-۸-۳-۱- روش اسپری ..... ۴۳

۳-۸-۳-۲- روش فروبردن برگ یا غذا در سم (LD و FD) ..... ۴۶

۳-۸-۳-۳- روش فروبردن حشره در سم(ID) ..... ۴۶

۳-۸-۴- بررسی دوام سمیت تماسی اسانس نانوکپسوله و اسانس معمولی ..... ۴۷

۳-۸-۵- بررسی اثر دورکنندگی اسانس نانوکپسوله و اسانس معمولی ..... ۴۷

۳-۸-۵-۱- مطالعه اثر دورکنندگی اسانس نانوکپسوله و اسانس معمولی (به روش تدخینی) ..... ۴۷

۳-۸-۵-۲- مطالعه اثر دورکنندگی اسانس نانوکپسوله و اسانس معمولی (به روش غذای آلوده) ..... ۴۸

۳-۸-۵-۳- اثر دورکنندگی نانوکپسول (غذای آلوده به اسانس نانو کپسوله در مقایسه با غذای آلوده با اسانس معمولی)۴۸

۳-۸-۵-۴- روش محاسبه درصد دورکنندگی و تجزیه و تحلیل آماری ..... ۴۸

۳-۸-۶- اثر اسانس نانوکپسوله و اسانس معمولی روی شاخص تغذیه شب پره پشت الماسی ..... ۵۱

۳-۸- ۷- اثر اسانس نانوکپسوله و اسانس معمولی درمنه روی شاخص‌های تغذیه‌ای شپشه آرد ..... ۵۳

**فصل چهارم: نتایج** ..... ۵۵

۴-۱- خصوصیات فرمولاسیون اسانس نانوکپسوله درمنه..... ۵۵
۴-۲- شکل شناسی سطح نانوکپسول..... ۵۷
۴-۳- بررسی میزان باقیمانده وزنی اسانس با گذشت زمان..... ۵۹
۴-۴- جداسازی و شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس در نانوکپسول..... ۶۰
۴-۵- تعیین سمیت تنفسی اسانس درمنه قبل و بعد از نانوکپسول شدن روی حشرات..... ۶۲
۴-۶- بررسی دوام سمیت تنفسی اسانس نانوکپسوله و اسانس معمولی درمنه روی حشرات..... ۶۴
۴-۷- آزمایش بررسی سمیت تماسی اسانس قبل و بعد از نانوکپسول شدن روی حشرات..... ۶۷
۴-۷- اثر دور کنندگی اسانس قبل و بعد از نانوکپسول شدن روی حشرات..... ۷۸
۴-۷-۱- مطالعه اثر دورکنندگی اسانس نانوکپسوله و اسانس معمولی (به روش تدخینی) روی لارو سن سوم شب پره پشت الماسی..... ۷۸
۴-۷-۲- مطالعه اثر دورکنندگی اسانس نانوکپسوله و اسانس معمولی (به روش غذای آلوده) روی حشرات..... ۸۱
۴-۶-۳- اثر دورکنندگی نانوکپسول (غذای آلوده به نانو کپسول در مقایسه با غذای آلوده با اسانس معمولی) روی حشرات..... ۸۶
۴-۷- اثر اسانس قبل و بعد از نانوکپسول شدن روی شاخص‌های تغذیه‌ای حشرات..... ۸۹
۴-۷-۱- تاثیر اسانس نانوکپسوله و اسانس معمولی بر نرخ مصرف نسبی (RCR) لارو شب‌پره پشت الماسی..... ۸۹
۴-۷-۲- تاثیر اسانس نانوکپسوله و اسانس معمولی روی نرخ رشد نسبی (RGR) لارو شب‌پره پشت الماسی..... ۹۰
۴-۷-۳- تاثیر اسانس نانوکپسوله و اسانس معمولی بر شاخص کارایی تبدیل غذای خورده شده (ECI) لارو شب‌پره پشت الماسی..... ۹۲
۴-۷-۴- تاثیر اسانس نانوکپسوله و اسانس معمولی بر شاخص کارایی تبدیل غذای هضم شده (ECD) لارو شب‌پره پشت الماسی..... ۹۴
۴-۷-۵- تاثیر اسانس نانوکپسوله و اسانس معمولی بر شاخص تقریبی هضم شوندگی(AD) لارو شب‌پره پشت الماسی۹۶
۴-۷-۶- تاثیر اسانس نانوکپسوله و اسانس معمولی بر شاخص باز دارندگی تغذیه (FDI) لارو شب‌پره پشت الماسی...۹۹
۴-۸- اثر اسانس قبل و بعد از نانوکپسول شدن روی شاخص‌های تغذیه‌ای حشره کامل ۱ تا ۳ روزه شپشه آرد.....۱۰۱
۴-۸-۱- تاثیر اسانس نانوکپسوله و اسانس معمولی بر نرخ مصرف نسبی (RCR) حشره کامل ۱ تا ۳ روزه شپشه آرد۱۰۱
۴-۸-۲- تاثیر اسانس نانوکپسوله و اسانس معمولی روی نرخ رشد نسبی (RGR) حشره کامل ۱ تا ۳ روزه شپشه آرد۱۰۲

۴-۸-۳- تاثیر اسانس نانوکپسوله و اسانس معمولی بر شاخص کارایی تبدیل غذای خورده شده (ECI) حشره کامل ۱ تا ۳ روزه شپشه آرد ..... ۱۰۴
۴-۸-۴- تاثیر اسانس نانوکپسوله و اسانس معمولی بر شاخص باز دارندگی تغذیه (FDI) لارو شب‌پره پشت الماسی ۱۰۶
**فصل پنجم: بحث** ..... ۱۰۸
۵-۱- خصوصیات فرمولاسیون اسانس نانوکپسوله درمنه ..... ۱۰۸
۵-۲- سمیت تنفسی و غلظت کشنده اسانس معمولی و اسانس نانوکپسول شده گیاه درمنه ..... ۱۱۱
۵-۳- آزمایش بررسی سمیت تماسی اسانس قبل و بعد از نانوکپسول شدن روی حشرات ..... ۱۱۳
۵-۴- دوام سمیت تنفسی و تماسی اسانس گیاهی بر روی حشرات کامل مورد مطالعه ..... ۱۱۷
۵-۵- اثر دور کنندگی اسانس قبل و بعد از نانوکپسول شدن روی حشرات ..... ۱۱۸
۵-۶- اثر اسانس قبل و بعد از نانوکپسول شدن روی شاخص‌های تغذیه‌ای لارو شب پره پشت الماسی ..... ۱۲۰
۵-۷- اثر اسانس قبل و بعد از نانوکپسول شدن روی شاخص‌های تغذیه‌ای شپشه آرد ..... ۱۲۳
**نتیجه گیری نهایی و پیشنهادات:** ..... ۱۲۴
**منابع** ..... ۱۲۷

**جدول۲-۱**- پلیمرهای دیواره نانو کپسول (Huang *et al.*, 2006)..... ۸

**جدول۴-۱**- میانگین بازده تولید، کارایی, میزان اسانس بارگذاری شده و اندازه ذرات نانوکپسول..... ۵۵

**جدول ۴-۲**- ترکیبات شیمیایی اسانس در دمای ۱±۲۷ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵ ± ۶۵ درصد در محیط باز با استفاده از دستگاه GC وGC-MS..... ۶۱

**جدول ۴-۳**- مقادیر $LC_{50}$ محاسبه شده در بررسی سمیت تنفسی اسانس معمولی *A. sieberi* روی لارو سن سوم شب پره پشت الماسی *P. xylostella* و حشره کامل شپشه آرد *T. castaneum*..... ۶۳

**جدول ۴-۴**- مقادیر $LC_{50}$ محاسبه شده در بررسی سمیت تنفسی اسانس *A. sieberi* بعد از نانوکپسول شدن روی لارو سن سوم شب پره پشت الماسی *P. xylostella* و حشره کامل شپشه آرد *T. castaneum*..... ۶۳

**جدول ۴- ۵**- مقادیر $LT_{50}$ محاسبه شده دوام سمیت تنفسی اسانس نانوکپسوله درمنه و اسانس معمولی برای لارو سن سوم شب پره پشت الماسی (در غلظت ۱۰ پی پی ام) وحشره کامل ۱ تا ۳ روزه شپشه آرد (در غلظت ۳۰ پی پی ام)۶۶

**جدول۴-۶**- $LC_{50}$ سمیت اسانس معمولی درمنه روی لارو سن سوم شب پره پشت الماسی با استفاده از روش اسپری و روش فروبردن برگ و حشره در سم (مدت آزمایش ۳ روز) در حالت های ظروف با در باز و بسته..... ۶۹

**جدول ۴-۷**- $LC_{50}$ سمیت اسانس نانوکپسول شده درمنه روی لارو سن سوم شب پره پشت الماسی با استفاده از روش اسپری و روش فروبردن برگ و حشره در سم (مدت آزمایش ۳ روز) در حالت های ظروف با در باز و بسته..... ۷۰

**جدول۴-۸**- $LC_{50}$ سمیت اسانس معمولی درمنه روی حشره کامل ۱ تا ۳ روزه شپشه آرد با استفاده از روش اسپری و روش فروبردن برگ و حشره در سم (مدت آزمایش ۳ روز) در حالت های ظروف با در باز و بسته..... ۷۱

**جدول۴-۹**- $LC_{50}$ سمیت اسانس نانوکپسول شده درمنه روی حشره کامل ۱ تا ۳ روزه شپشه آرد با استفاده از روش اسپری و روش فروبردن برگ و حشره در سم (مدت آزمایش ۳ روز) در حالت های ظروف با در باز و بسته..... ۷۲

**جدول ۴-۱۰**- مقادیر $LT_{50}$ محاسبه شده برای دوام سمیت تماسی اسانس معمولی درمنه..... ۷۷

**جدول ۴-۱۱**- مقادیر $LT_{50}$ محاسبه شده برای دوام سمیت تماسی اسانس‌نانوکپسوله درمنه..... ۷۷

**جدول ۴-۱۲**- میانگین (±خطای معیار) تفاوت وزن (B)، میزان غذای خورده شده (I) و میزان فضولات تولید شده (F) توسط لارو سن شب پره پشت الماسی در غلظت های مختلف اسانس نانوکپسول شده و اسانس خالص درمنه ۷۲ ساعت پس از تغذیه..... ۹۸

**جدول۴-۱۳**- اثر اسانس نانوکپسوله شده، اسانس معمولی، نانوکپسول خالی و محلول آبی توییین روی شاخص‌های تغذیه‌ای لارو سن سوم شب پره پشت الماسی ۷۲ ساعت پس از تغذیه..... ۱۰۰

**جدول۴-۱۴**- اثر اسانس نانوکپسوله شده، اسانس معمولی، نانوکپسول خالی و آب + توییین روی شاخص‌های تغذیه‌ای حشرات ۱تا ۳ روزه شپشه آرد در ۷۲ ساعت پس از تغذیه..... ۱۰۷

**فهرست اشکال ..... صفحه**

**شکل۲-۱**- نمایش شماتیک دستگاه خشک کن پاششی برای تهیه ریز کپسول سازی(Celik and Wendel, 2006)....۹

**شکل ۲-۲**- نمایش شماتیک روش رسوبدهی به کمک نمک برای تهیه نانوکپسول (Pinto Reis *et al*., 2006).....۱۱

**شکل ۲-۳**- نمایش شماتیک روش امولسیون/ تبخیر حلال برای تهیه نانوکپسول (Pinto Reis *et al*., 2006).....۱۲

**شکل ۲-۴**- نمایش شماتیک روش امولسیون/تبخیر حلال برای تهیه نانوکپسول (O/W) (Huang *et al*., 2006).....۱۴

**شکل۲-۵**- نمایش شماتیک روش امولسیون دوگانه با تبخیر حلال برای تهیه نانوکپسول (W/O/W) (Huang *et al*., 2006).....۱۴

**شکل ۲-۶**- نمایش شماتیک روش جابجایی حلال برای تهیه نانوکپسول (Pinto Reis *et al*., 2006).....۱۶

**شکل ۲-۷**- نمایش شماتیک روش نفوذ حلال ESD برای تهیه نانوکپسول (Pinto Reis *et al*., 2006).....۱۷

**شکل ۲-۸**- فرایند تشکیل شدن دیواره پلی اوره فرمالدهید برای تهیه نانوکپسول (Rochmadi *et al*., 2010).....۲۰

**شکل ۳-۱**- گیاه درمنه *Artemisia sieberi* جمع آوری شده از اطراف دریاچه حوض سلطان قم در اواخر مهر ماه ۱۳۸۹ (در موقعیت جغرافیایی ´۷°۳۴عرض جغرافیایی ´۷°۵۱طول جغرافیایی و ارتفاع ۸۱۰ متری از سطح آزاد دریا قرار گرفته است).....۳۶

**شکل ۳-۲**- دستگاه اسانس گیر Cleavenger برای استخراج اسانس گیاه درمنه.....۳۷

**شکل ۳-۳**- A: دستگاه هموژنیزر برای تولید آزمایشگاهی(Janke- Kunkel, Germany)، B:دستگاه همزن مکانیکی برای تولید نیمه صنعتی(Papenmeier, Germany).....۳۹

**شکل ۳-۴**- لارو سن سوم شب پره پشت الماسی *P. xylostella* و حشره کامل شپشه آرد *T. castaneum* .....۴۱

**شکل ۳-۵**- شیشه های آزمایش سمیت تنفسی به حجم ۲۸۰ میلیلیتر (A) و پتری دیش های بررسی سمیت در روش اسپری با قطر ۹ سانتی متر با در پوشیده شده از توری (قابل تهویه) (B) روی حشره کامل شپشه آرد و لارو سن سوم شب پره پشت الماسی.....۴۵

**شکل ۳-۶**- دستگاه برج پاشش Potter Spray Tower (Burkard, UK)، در بررسی سمیت تماسی با روش اسپری روی حشره کامل شپشه آرد و لارو سن سوم شب پره پشت الماسی، با فشار کار ۵ پوند بر اینچ مربع و مقدار در هر پاشش ۱میلی لیتر از محلول سمی..... ۴۵

**شکل۳-۷**- شکل اصلی ظرف های آزمایش اثر دورکنندگی اسانس معمولی و اسانس نانوکپسوله، ظرف وسط محل رهاسازی حشرات با در بسته و ظروف طرفینی مربوط به تیمار و شاهد که با توری پوشانده شده اند (قابل تهویه)..... ۴۹

**شکل ۳-۸**- مدل طراحی ظرف های آزمایش اثر دورکنندگی (به روش تدخینی) ..... ۵۰

**شکل۳-۹**- مدل طراحی ظرف های آزمایش اثر دورکنندگی اسانس نانوکپسوله (به روش غذای آلوده)..... ۵۰

**شکل ۳-۱۰**- مدل طراحی ظرف های آزمایش اثر دورکنندگی غذای آلوده به اسانس نانو کپسوله در مقایسه با غذای آلوده با اسانس معمولی..... ۵۰

**شکل ۴-۱**- فروانی اندازه ذرات اسانس نانوکپسول شده درمنه توسط دستگاه Laser light scattering (Sematech).. ۵۶

**شکل۴-۲**- تصویر ذرات نانوکپسول حاوی اسانس درمنه توسط میکروسکوپ الکترونی پویشی (Philips XL30) (Scanning (SEM)..... ۵۸

**شکل۴-۳**- تصویر ساختار زنجیره ای نانوکپسول های پلی اوره فرمالدهید حاوی اسانس درمنه توسط میکروسکوپ الکترون عبوری (TEM, Philips, CM120)..... ۵۸

**شکل ۴-۴**- درصد وزنی باقیمانده اسانس قبل و بعد از نانوکپسول شدن در دمای ۱±۲۷ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵ ± ۶۵ درصد در محیط باز در زمان های ۱, ۷, ۱۴ و ۲۱ روز..... ۵۹

**شکل ۴- ۵**- دوام سمیت تنفسی اسانس نانوکپسوله و اسانس معمولی درمنه *A. sieberi* روی لارو سن سوم شب پره پشت الماسی در غلظت ۱۰ پی پی ام..... ۶۵

**شکل ۴-۶**- دوام سمیت تنفسی اسانس نانوکپسوله و اسانس معمولی درمنه *A. sieberi* روی حشره کامل ۱ تا ۳ روزه شپشه آرد در غلظت ۳۰ پی پی ام..... ۶۵

**شکل ۴- ۷**- دوام سمیت تماسی اسانس نانوکپسوله و اسانس معمولی درمنه روی لارو سن سوم شب پره پشت الماسی در غلظت های ۳۰۰ و ۱۰۰۰۰ پی پی ام..... ۷۵

**شکل ۴- ۸**- دوام سمیت تماسی اسانس نانوکپسوله و اسانس معمولی درمنه روی حشره کامل ۱ تا ۳ روزه شپشه در غلظت های ۶۰۰ و ۴۰۰۰۰ پی پی ام..... ۷۶

**شکل ۴-۹**- اثر دورکنندگی اسانس نانوکپسوله و اسانس معمولی (به روش تدخینی) روی لارو سن سوم شب پره پشت الماسی در زمان ها و غلظت های مختلف..... ۷۹

**شکل ۴-۱۰**- اثر دورکنندگی اسانس نانوکپسوله و اسانس معمولی (به روش تدخینی) روی حشرات کامل شپشه آرد در زمان ها و غلظت های مختلف..... ۸۰

**شکل۴-۱۱**- اثر دورکنندگی اسانس نانوکپسوله و اسانس معمولی (به روش تدخینی) روی لارو سن سوم شب پره پشت الماسی در زمان ها و غلظت های مختلف..... ۸۲

**شکل ۴-۱۲**- اثر دورکنندگی اسانس نانوکپسوله و اسانس معمولی (به روش غذای آلوده) حشره کامل شپشه آرد در زمان ها و غلظت های مختلف..... ۸۳

**شکل۴-۱۳**- اثر دورکنندگی اسانس نانوکپسوله و اسانس معمولی (به روش تدخینی و غذای آلوده) روی لارو سن سوم شب پره پشت الماسی در زمان ها و غلظت های مختلف..... ۸۴

**شکل۴-۱۴**- اثر دورکنندگی اسانس نانوکپسوله و اسانس معمولی (به روش تدخینی و غذای آلوده) حشره کامل شپشه..... ۸۵

**شکل۴-۱۶**- اثر دورکنندگی اسانس نانوکپسوله (غذای آلوده به نانو کپسول در مقایسه با غذای آلوده با اسانس معمولی) حشره کامل شپشه آرد در زمان ها و غلظت های مختلف..... ۸۷

**شکل۴-۱۵**- اثر دورکنندگی اسانس نانوکپسوله (غذای آلوده به نانو کپسول در مقایسه با غذای آلوده با اسانس معمولی) روی لارو سن سوم شب پره پشت الماسی در زمان ها و غلظت های مختلف..... ۸۷

**شکل۴-۱۶**- اثر دورکنندگی اسانس نانوکپسوله (غذای آلوده به نانو کپسول در مقایسه با غذای آلوده با اسانس معمولی) روی حشره کامل ۱ تا سه روزه شپشه آرد در زمان ها و غلظت های مختلف..... ۸۸

**شکل ۴ -۱۷**- اثر اسانس نانوکپسوله شده و اسانس معمولی درمنه روی نرخ مصرف نسبی(RCR) لارو سن سوم شب پره پشت الماسی در ۴۸،۲۴ و ۷۲ ساعت پس از تغذیه..... ۸۹

**شکل ۴-۱۸**- اثر اسانس نانوکپسوله شده و اسانس معمولی درمنه روی نرخ رشد نسبی (RGR) لارو سن سوم شب پره پشت ..... ۹۱

**شکل۴-۱۹**- اثر اسانس نانوکپسوله شده و اسانس معمولی درمنه روی کارایی تبدیل غذای خورده شده(ECI) لارو سن سوم شب پره پشت الماسی در در ۴۸،۲۴ و ۷۲ ساعت پس از تغذیه ..... ۹۳

**شکل۴-۲۰**- اثر اسانس نانوکپسوله شده و اسانس معمولی درمنه روی شاخص کارایی تبدیل غذای هضم شده (ECD)لارو سن سوم ..... ۹۵

**شکل ۴-۲۱**- اثر اسانس نانوکپسوله شده و اسانس معمولی درمنه روی شاخص تقریبی هضم شوندگی(AD) لارو سن سوم شب پره پشت الماسی در ۴۸،۲۴ و ۷۲ ساعت پس از تغذیه ..... ۹۷

**شکل۴-۲۲**- اثر اسانس نانوکپسوله شده و اسانس معمولی درمنه روی شاخص شاخص بازدارندگی تغذیه(FDI) لارو سن سوم شب پره پشت الماسی در ۲۴, ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تغذیه ..... ۱۰۰

**شکل۴-۲۳**- اثر اسانس نانوکپسوله شده و اسانس معمولی درمنه روی نرخ مصرف نسبی (RCR) حشرات ۱تا ۳ روزه شپشه آرد در ۷۲ ساعت پس از تغذیه ..... ۱۰۱

**شکل۴-۲۴**- اثر اسانس نانوکپسوله شده و اسانس معمولی درمنه روی نرخ رشد نسبی (RGR) حشرات ۱تا ۳ روزه شپشه آرد در ۷۲ ساعت پس از تغذیه ..... ۱۰۳

**شکل۴-۲۵**- اثر اسانس نانوکپسوله شده و اسانس معمولی درمنه روی کارایی تبدیل غذای خورده شده ECI حشرات ۱تا ۳ روزه شپشه آرد در ۷۲ ساعت پس از تغذیه ..... ۱۰۵

**شکل ۴-۲۶**- اثر اسانس نانوکپسوله شده و اسانس معمولی درمنه روی شاخص باز دارندگی تغذیه (FDI) حشرات ۱تا ۳ روزه شپشه آرد در ۷۲ ساعت پس از تغذیه ..... ۱۰۷

# فصل اول: مقدمه

## ۱-۱- تعریف مسئله و اهمیت پژوهش

در راستای یافتن جایگزین مناسب برای آفت‌کش‌های شیمیایی، اسانس‌های گیاهی به دلیل دارا بودن سمیت تنفسی، تماسی، خاصیت دور کنندگی، ضد تغذیه‌ای، اثر روی پارامترهای زیستی حشره و همچنین کم خطر بودن آن برای انسان و سایر پستانداران جایگاه ویژه ای پیدا کرده اند (Keita *et al*., 2000; Papachristos and Stamopoulos, 2002). از طرفی به دلیل خاصیت فرار بودن ماده موثره اسانس‌ها و اکسید شدن سریع آن‌ها لازم است که فن آوری جدیدی برای بهبود کارایی سمیت اسانس‌ها با حفظ ماهیت شیمیایی آن‌ها بکار گرفته شود. یکی از این روش‌ها استفاده از فرمولاسیون‌های مختلف و تغییراتی است که می تواند کیفیت و میزان تاثیر اسانس را افزایش دهد. پژوهش‌های انجام شده در مورد تولید فرمولاسیون اسانس و بررسی خواص حشره کشی آن روی حشرات آفت اندک است. Moretti *et al*. (2002) اثر میکروکپسول ژلاتینی حاوی اسانس رزماری .L *Rosmarinus officinalis* و آویشن *Thymus herba-barona* Loisel را روی ابریشم باف ناجور.L *Lymantria dispar* بررسی کرده اند. نتایج به دست آمده از گزارش آن ها نشان داد که میکروکپسول کردن یک روش مناسب برای محافظت اسانس با ترکیبات شیمیایی متنوع است و این روش می تواند باعث جلوگیری از کاهش به هدر رفتن مواد موثره اسانس شود. Lai *et al*. (2006) نیز تحقیقاتی روی اثر امولسیون نانو ذرات اسانس .L *Artemisia arborescens* روی سفید بالک پنبه (Gennadius) *Bemesia tabaci* انجام داده اند. نتایج ارزیابی شده آن ها نشان داد در نوع،

کیفیت و کمیت محتویات اسانس در طول مدت نگهداری تغییری حاصل نشد و سرعت رهایش بالای اسانس در نانو ذرات در مقایسه با نمونه های شاهد به شدت پایین آمد. نتایج حاصله از پژوهشات نشان می‌دهند که نانوکپسول کردن اسانس می تواند یک فرمولاسیون و ابزار جدید و مناسب در کنترل آفات باشد. علی رغم تحقیقات متعددی که روی خواص حشره کشی اسانس های گیاهی روی برخی از آفات انباری مانند شپشه آرد *Tribolium castaneum* (Herbst)، شپشه برنج *Sitophilus oryza*e (L.) و سوسک چهار نقطه ای حبوبات *Callosobruchus maculatus* (F.) و برخی از آفات زراعی مهم مانند سفید بالک پنبه انجام شده است (نگهبان و محرمی پور، ۱۳۸۵ ,.Sahaf *et al*) 2008; Lai *et al.*,2006 ;Negahban *et al.*, 2006a, 2007; ، اما تاکنون پژوهشی در زمینه اثر حشره کشی اسانس‌های نانوکپسوله روی آفات مهم کشاورزی انجام نشده است. از جمله آفات زراعی و انباری مهم می توان به ترتیب به شب پره پشت الماسی و شپشه آرد اشاره نمود. شب‌پره پشت الماسی *Plutella xylostella* (L.) آفت عمده و همه جازی محصولات خانواده چلیپائیان و چندین محصول گلخانه‌ای بوده، که هزینه سالانه برای کنترل این آفت در جهان حدود یک میلیارد دلار تخمین زده شده است (Talekar and Shelton, 1993, Reddy *et al*., 2004). برای کنترل جمعیت این آفت در سرتاسر جهان از حشره‌کش های شیمیایی استفاده می‌شود که موجب بروز مقاومت در شب‌پره پشت الماسی گردیده اند و منجر به شکست در مبارزه با این آفت به خصوص در محصولات گیاهی این خانواده در سراسر جهان گردید (Mi *et al*., 2010). در آمریکای شمالی، کشاورزان سنتی برای مدیریت این حشره از حشره‌کش‌های ترکیبی استفاده می‌کنند (Liu *et al*., 2002). اگر چه این حشره‌کش‌ها مؤثرند، ولی استفاده زیاد از آن‌ها باعث از بین رفتن سیستم طبیعی گردیده، که این خود باعث بروز مقاومت در حشره و طغیان مجدد آن، از بین رفتن دشمنان طبیعی و موجودات غیر هدف می‌شود (Talekar and Shelton, 1993). همچنین فعالیت شپشه آرد *T. castaneum* در انبارهای آرد و افزایش سریع جمعیت آن سبب می شود که در مدت کوتاهی محصول با مدفوع و پوسته های لاروی و شفیرگی مخلوط و از مرغوبیت آن کاسته شده، در نتیجه آرد آلوده معمولاً ارزش نانوایی خود را از

دست می دهد (Rees, 2004). کنترل این آفات انباری بیشتر با استفاده از آفت کش‌ها و ترکیبات شیمیایی گازی صورت می گیرد. حداقل ۱۶ ماده شیمیایی به عنوان تدخین کننده (Fumigants) ثبت شده اند، ولی به دلیل مسائل مربوط به سلامت انسان، تنها متیل بروماید و فسفین در سطح تجاری برای کنترل آفات انباری به کار می روند (Evans, 1987; Taylor, 1994). از طرفی به دلیل اثرات مخرب متیل بروماید بر لایه اوزون، استفاده از این ماده شیمیایی تا سال ۲۰۰۵ به ۲۰ درصد کاهش یافته و کاربرد آن تا سال ۲۰۱۵ طبق پروتکل Montreal باید متوقف شود. همچنین مقاومت آفات انباری نسبت به سم فسفین در ۴۵ کشور دنیا گزارش شده است ( Taylor, 1989; Shaaya *et al*., 1997; Lee *et al.*, 2001). استفاده مکرر از این مواد طی دهه های متوالی باعث از بین رفتن دشمنان طبیعی، اختلال در کنترل بیولوژیکی، اثر روی موجودات غیر هدف، آلودگی محیط زیست، در خطر قرار گرفتن سلامت انسان، طغیان آفات و ایجاد مقاومت در آنها گردیده است (Lee *et al*., 2001; Tapondjou *et al*., 2001). لذا در این پژوهش اثرات حشره کشی، فرمولاسیون اسانس نانوکپسول شده روی دو آفت مهم زراعی و انباری ذکر شده در بالا که از نظر تاکسونومی، رژیم غذایی، محیط زندگی و رفتار کاملا متفاوت هستند، مورد بررسی قرار گرفته است. با توجه به این که اثرات حشره کشی اسانس گیاه درمنه *Artemisia sieberi* Besser روی تعدادی از آفات انباری به اثبات رسیده است (Moharramipour and Negahban, 2005; Negahban *et al*., 2004, 2006a,b, 2007). لذا در این پژوهش اسانس این گیاه برای فرمولاسیون نانوکپسول شدن انتخاب شد. و اثرات حشره کشی، دورکنندگی و ضد تغذیه‌ای اسانس نانوکپسول شده آن در مقایسه با اسانس معمولی روی شب‌پره پشت الماسی و شپشه آرد مورد مطالعه قرار گرفت. بر اساس مطالب ارائه شده اهداف اصلی این رساله به شرح زیر می‌باشد:

## ۱-۲- اهداف پژوهش

۱- تولید نانوکپسول حاوی اسانس درمنه

۲- جداسازی و شناسایی ترکیبات شیمیایی نانوکپسول حاوی اسانس

۳- مطالعه اثر سمیت تنفسی و تماسی فرمولاسیون جدید نانوکپسول حاوی اسانس روی شب پره پشت الماسی و شپشه آرد

۴- مطالعه اثر دورکنندگی نانوکپسول حاوی اسانس روی شب پره پشت الماسی و شپشه آرد

۵- بررسی تاثیر ضد تغذیه‌ای نانوکپسول حاوی اسانس روی میزان تغذیه روی شب پره پشت الماسی و شپشه آرد

# فصل دوم: مروری بر مطالعات انجام شده

## ۲-۱- فرمولاسیول نانو کپسول (Nanoencapsulated formulation)

پیشرفت روزافزون در زمینه فن آوری نانو و کاربرد گوناگون و گسترده آن در گرایش‌های مختلف علمی و صنعتی باعث شده است که شرکت‌های تولیدکننده سموم دفع آفات نیز برای بهبود کیفیت محصولات خود، به دنبال بهره‌گیری از این فناوری باشند. تحقیقات نشان داده است که می‌توان با استفاده از فناوری نانو تغییرات مفید فراوانی در آفت‌کش‌ها ایجاد نمود که مواردی مانند کاهش مصرف سموم، افزایش کارایی، سازگاری بیشتر با محیط زیست، بهبود کیفیت و کاهش خطرات تماسی از آن جمله است (Passino *et al*., 2004). این نوع فرمولاسیون جدید بوده و به طور کلی جزو گروه فرمولاسیون های رهایش کنترل شده است. نانو کپسول‌ها ذرات آفت‌کش جامد یا مایعی هستند که توسط ماده پلیمری محصور شده اند. میزان ماده موثره رها شده از نانوکپسول‌ها با تغییر در ضخامت و ساختار پوشش قابل کنترل است (Miro Specos *et al*., 2011). با استفاده از این فرمولاسیون، احتمالا توسعه و گسترش پدیده مقاومت آفات به سموم کاهش می یابد زیرا در صورتی که یک سم آفت‌کش در داخل کپسول و یا محفظه بسته ای قرار می گیرد از تماس حشره آفت با دز بالای سم ممانعت می شود. علاوه بر این حشرات مفید نیز کمتر در معرض سم قرار می گیرند. پایداری سم در این فرمولاسیون دو یا چهار برابر بیشتر از حالتی است که به صورت امولسیون تهیه شده باشد که در واقع هدر رفتن سم به حداقل می رسد. به عبارت دیگر اندازه کوچک، تأثیر یک آفت‌کش را بهینه می‌سازد. به هر حال واضح است که استفاده از نانوکپسول تغییرات شگرفی در رفتار محصول تهیه شده ایجاد می کند. از آن جمله می‌توان به افزایش تأثیر ماده مؤثره و فعالیت بیولوژیکی طولانی‌تر آن در خصوص آفت‌کش‌های کپسول شده اشاره نمود (Lee *et al*., 2005).

## ۲-۲- تاریخچه کپسول سازی[۱]

کپسول سازی فرآیندی است که در آن یک ماده و یا مخلوطی از مواد توسط مواد دیگری محصور شده و یا به دام انداخته می شوند. ماده ی محصور شده اغلب به حالت مایع است ولی می تواند به صورت ذرات جامد و یا گاز نیز باشد. این بخش تحت عناوین گوناگونی مانند هسته[۲]، بار[۳]، ماده فعال[٤]، ماده پوشش شونده[٥] و یا بخش درونی[٦] نام گذاری می شود. ماده ی پوشاننده را دیواره[۷]، حمل کننده[۸]، غشاء[۹]، پوسته[۱۰] و یا پوشش[۱۱] می نامند. اندازه ذراتی که بوسیله فرایند کپسول کردن بدست می آیند بسیار متنوع است که آنها را می توان بدین صورت طبقه بندی نمود: ماکرو (بیش از ۵۰۰۰ میکرون)، میکرو (بین ۰/۲ تا ۵۰۰۰ میکرون) و نانو (کوچکتر از ۰/۲ میکرون یا ۲۰۰۰ آنگستروم) .کپسول‌ها کاربردهای گوناگونی در صنایع داروسازی، مهندسی بافت، صنایع غذایی، صنایع کاغذسازی، کشاورزی، و مواد آرایشی دارد (King,1995; Lee and Shin, 2007).

## ۲-۳- مواد مورد استفاده در هسته و دیواره کپسول ها

انواع گوناگونی از مواد آلی و غیر آلی به عنوان مواد دیواره استفاده می شوند که انتخاب نوع ماده

دیواره به خواص فیزیکو شیمیایی هسته وابسته است. موادی از دیواره ها که کاربرد عمومی دارند در زیر آمده اند ( Kondo, 1979):

۱- قندها: شربت ذرت، دکستران، نشاسته و ساکاروز

---

1 -Encapsulation
2 -Core material
3 -Payload
4 -Actives
5 -Fill
6 - Internal phase
7 -Wall material
8 -Carrier
9 -Membrane
10-Shell
11-Coating