تحقیقات آفات گیاهی
۱۴۰۲ -۱۳(۲): ۶۷ -۸۰
Open access
doi: 10.22124/iprj.2023.25221.1531
pISSN:2322-2409
eISSN: 2538-6123

علمی پژوهشی

تأثیر نانوفرمولاسیون بر سمیت عصاره آبی برخی گیاهان علیه کنه تارتن دولکه‌ای *Tetranychus urticae* و سفیدبالک پنبه *Bemisia tabaci*

فریده عرج‌پور[۱]، رویا عزیزی[۲]، امین صدارتیان جهرمی[۳]* و مجتبی قانع جهرمی[۴]

گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران

شناسه ارکید: ۱- 0009-0009-8028-9994، ۲- 0000-0002-2709-3898، ۳- 0000-0002-2588-2359، ۴- 0009-0002-7219-904x

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۵/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۶/۲۲)

چکیده

پژوهش حاضر، با هدف ارزیابی اثرات کشندگی عصاره‌های آبی و نانوفرمولاسیون‌های گیاهان رزماری *Rosmarinus officinalis* L.، اسطوخودوس *Lavandula angustifolia* Mill.، اکالیپتوس *Eucalyptus globulus* Labill. و ترخون *Artemisia dracunculus* L. روی کنه تارتن دولکه‌ای *Tetranychus urticae* Koch (کنه‌های بالغ نر و ماده) و زیره سبز *Cuminum cyminum* L. و گشنیز *Coriandrum sativum* L. روی سفیدبالک پنبه *Bemisia tabaci* (Gennadius) (پوره سن اول و سوم) در شرایط آزمایشگاهی با دمای ۲ ± ۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵ ± ۶۵ درصد، دوره روشنایی ۱۶ ساعت و به روش سمیت تماسی انجام پذیرفت. در میان عصاره‌های آبی، عصاره رزماری (LC_{50} = ۳۲۲۷ پی‌پی ام) و از میان عصاره‌های فرموله شده، نانوفرمولاسیون ترخون (LC_{50} = ۱۴۵۴ پی‌پی ام) بیش‌ترین میزان سمیت را علیه کنه‌های بالغ داشتند. عصاره آبی و فرموله شده زیره سبز نیز به‌ترتیب با LC_{50} محاسبه شده ۹۶۳۹ و ۶۷۴۸ پی‌پی‌ام روی پوره‌های سن اول و ۱۱۶۷۰ و ۹۹۳۷ پی‌پی‌ام روی پوره‌های سن سوم، بیش‌ترین میزان سمیت را از خود نشان دادند. پوره‌های سن اول سفیدبالک نسبت به پوره‌های سن سوم، حساسیت بیش‌تری نسبت به عصاره‌های آبی و فرموله شده از خود نشان دادند. بر اساس نتایج کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)، ترکیب سالیسیک اسید برای گیاهان رزماری (۶۸/۲۱٪)، اسطوخودوس (۹۰/۳۳٪) و گشنیز (۹۰/۹٪) و کوئرستین برای اکالیپتوس (۶۲/۷۶٪)، ترخون (۴۹/۲۳٪) و زیره‌سبز (۶۸/۱۵٪) بیش‌ترین درصد را داشتند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که عصاره‌های گیاهی به صورت تماسی دارای اثر کنترلی مطلوبی روی آفات گلخانه‌ای مذکور می‌باشند وکمک شایانی به استفاده از فرآورده‌های گیاهی در برنامه‌های مدیریت تلفیقی این آفات در شرایط گلخانه خواهد نمود.

واژه‌های کلیدی: آفات گلخانه‌ای، کروموتوگرافی، مدیریت تلفیقی آفات، نانوفرمولاسیون

* نویسنده مسئول: Sedaratian@yu.ac.ir

مقدمه

کنه تارتن دولکه‌ای *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) از آفات شناخته‌شده جهانی با دامنه میزبانی وسیع می‌باشد که هر ساله خسارات قابل توجهی به محصولات فضاهای باز و گلخانه‌ای وارد می‌آورد (Khanamani *et al*., 2012). این آفت در هنگام تغذیه استایلت‌های خود را در سلول‌های پارانشیمی گیاه وارد نموده و با پاره کردن جدار سلول‌ها، محتویات آن را می‌مکد. در اثر تغذیه از کلروپلاست ابتدا لکه‌های کوچک و زردرنگ روی برگ ایجاد شده و در نهایت، منجر به خشک شدن برگ می‌شود (Attia *et al*., 2013). چرخه زندگی کوتاه، قدرت باروری بالا و توانایی ایجاد مقاومت در برابر بسیاری از آفت‌کش‌ها، کنترل شیمیایی این آفت را دشوار نموده است (Sedaratian *et al*., 2009). یکی دیگر از مهم‌ترین آفات گیاهان گلخانه‌ای، سفیدبالک پنبه *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hem.: Aleyrodidae) می‌باشد که با تغذیه از شیره گیاهی و انتقال بیماری‌های ویروسی، به طیف گسترده‌ای از گیاهان میزبان خسارت می‌زند (Ahmed *et al*., 2011). همانند کنه تارتن دولکه‌ای، چرخه زندگی این آفت نیز کوتاه بوده و با تغذیه از مواد مغذی موجود در شیره گیاهی، میزان محصول تولید شده را به‌شدت کاهش می‌دهد. در خسارت شدید، کلروز برگ و خشکی و ریزش زود هنگام آن و در نهایت مرگ گیاه میزبان مشاهده خواهد شد (Pimentel *et al*., 2005).

کنترل آفات گلخانه‌ای به‌صورت گسترده بر پایه استفاده از آفت‌کش‌های شیمیایی استوار است (Van Leeuwen *et al*., 2010). آفت‌کش‌های شیمیایی می‌توانند برای انسان، محیط‌زیست و موجودات غیرهدف مضر باشند و باعث ایجاد مقاومت در جمعیت آفات هدف شوند (Khanamani *et al*., 2017). چنین اثرات نامطلوبی باعث شده که پژوهشگران به دنبال استفاده از روش‌های کنترلی جایگزین، مناسب و سازگار با محیط‌زیست برای کنترل آفات باشند (Tapondjou *et al*., 2005). از جمله راهبردهای مدنظر در این راستا، می‌توان به استفاده از فرآورده‌های مشتق شده از گیاهان اشاره نمود.

ترکیبات شیمیایی ثانویه موجود در گیاهان به‌عنوان یک سیستم دفاعی کارآمد در مقابل آفات مهاجم عمل نموده و برخی گیاهان را به منبعی غنی از ترکیبات با خاصیت آفت‌کشی تبدیل می‌نمایند (Laborda *et al*., 2013). علاوه بر این، چنین ترکیباتی اثرات ناچیزی روی موجودات غیرهدف و به ویژه پستانداران داشته و در محیط‌زیست نیز به سرعت تجزیه می‌شوند (Pavela, 2007). اثرات چنین ترکیباتی روی آفات گیاهی به روش‌های مختلفی مانند کشندگی، دورکنندگی، ضدتغذیه، ممانعت کننده تخم‌ریزی و کاهنده میزان باروری مشاهده می‌شود. در مطالعه خردمند و همکاران (Kheradmand *et al*., 2015) سمیت اسانس‌های روغنی استخراج شده از گیاهان زیره سبز، میخک و نعناع علیه ماده‌های بالغ کنه تارتن مورد بررسی قرار گرفت و کم‌ترین و بیش‌ترین مقدار LC_{50} به‌ترتیب مربوط به گیاهان زیره سبز (۳/۷۴ میلی‌لیتر بر لیتر هوا) و نعناع (۷/۶۵ میلی‌لیتر بر لیتر هوا) برآورد شد. در پژوهشی دیگر، صراف معیری و همکاران (Sarraf Moayeri *et al*., 2014) با بررسی سمیت تنفسی اسانس‌های استخراج شده از گیاهان زیره سبز، نعناع و اسطوخودوس روی مراحل تخم و بالغ کنه تارتن دولکه‌ای به این نتیجه رسیدند که اسانس زیره سبز بیش‌ترین خاصیت بالغ‌کشی را نسبت به دو اسانس دیگر داشت. در تحقیقات باداوی و همکاران (Badawy *et al*., 2018) سمیت نانوامولسیون حاوی اسانس گیاه شیشه‌شور مجنون *Callistemon viminalis* Don علیه ماده‌های بالغ کنه تارتن دولکه‌ای مورد مطالعه قرار گرفت و بیان شد که چنین فرمولاسیون‌هایی را می‌توان در برنامه‌های مدیریتی کنه‌های تارتن در شرایط گلخانه مورد استفاده قرار داد. چنین شواهدی، زمینه مساعدی برای تجاری‌سازی فرآورده‌های استخراج‌شده از گیاهان فراهم نموده و ترکیباتی مانند

پیرتروم[1]، سابادیلا[2]، نیم[3]، نیکوتین[4] و ریانیا[5] از آلکالوییدهای مهم گیاهی هستند که به صورت تجاری تولید می‌شوند (Deng *et al*., 2012). بدون تردید، استفاده از روش‌های مناسب و کارآمد به منظور فرموله‌کردن فرآورده‌های استخراج شده از گیاهان، تأثیر به سزایی در حفظ خواص مفید و زیست‌فعالی و افزایش میزان بهره‌وری آن‌ها در برنامه‌های مدیریتی آفات خواهد داشت.

انتخاب یک فرمولاسیون مناسب کمک شایانی به حفظ خصوصیات آفت‌کشی ترکیبات گیاهی و کنترل میزان آزادسازی آن‌ها در محیط‌های مورد استفاده خواهد نمود. کپسوله‌کردن به عنوان روشی کارآمد برای تولید فرمولاسیون ترکیبات گیاهی و بهبود اثرات آفت‌کشی آن‌ها با استفاده از ساز و کارهایی مانند افزایش انحلال‌پذیری، قابلیت دسترسی بیولوژیک و هم‌چنین، کنترل میزان آزادسازی آن‌ها در محیط مطرح می‌باشد (Natrajan *et al*., 2015). این روش با استفاده از شیوه‌های مختلفی مانند ژل شدن یونی، خشک کردن پاششی، جداسازی فاز امولسیون، پلی‌مریزاسیون و غیره صورت می‌پذیرد (Munin & Edwards-Levy, 2011). از میان پلیمرهای زیستی مورد استفاده برای تولید نانوکپسول‌های آفت‌کش می‌توان به کیتوزان اشاره نمود که به دلیل دارا بودن خواصی مانند تجزیه زیستی، سازگاری زیستی و غیرسمی بودن، به عنوان یک پلی‌آمینوساکارید زنجیره‌ای خطی در طراحی نانوذرات بسیار مورد استفاده قرار می‌گیرد (Makhlof *et al*., 2011; Zargar *et al*., 2015). کیتوزان با گروه‌های آمینی و هیدروکسیل پس از سلولز به عنوان فراوان‌ترین پلیمر زیستی در طبیعت شناخته شده و طی فرآیند ان-دآلکیلاسیون کیتین ساخته می‌شود. هم‌چنین، این ترکیب به فراوانی در دیواره‌های سلولی میکروارگانیزم‌هایی مانند قارچ‌ها، کوتیکول حشرات و هم‌چنین، در چندین اندام تخصصی دیگر از جمله دهان سرپایان نیز یافت می‌شود (Hu *et al*., 2014; Ahmadi *et al*., 2017). در حالتی‌که سامانه‌های نانو حامل با هدف آفت‌کشی توسط کیتوزان و تریپلی فسفات انجام می‌شود، کاتیونی بودن کیتوزان و آنیونی بودن تریپلی فسفات باعث ایجاد یک تعامل الکترواستاتیک بین آن‌ها شده و تشکیل مجموعه‌ای پلی‌الکترولیت را می‌دهد که تحت تأثیر چندین فاکتور مانند pH، وزن مولکولی و نسبت وزنی تریپلی فسفات به کیتوزان قرار می‌گیرد (Feyzioglu & Tornuk, 2016).

نظر به اهمیت اقتصادی کنه تارتن دولکه‌ای و سفیدبالک پنبه در فرآیند تولید محصولات گلخانه‌ای و هم‌چنین، اثرات نامطلوب سموم شیمیایی مورد استفاده به منظور کنترل آن‌ها، پژوهش حاضر با هدف ارزیابی اثرات کشندگی عصاره آبی استخراج شده از رزماری *Rosmarinus officinalis* L.، اسطوخودوس *Lavandula angustifolia* Moll.، اکالیپتوس *Eucalyptus globulus* Labill. و ترخون *Artemisia dracunculus* L. روی کنه تارتن دولکه‌ای *T. urticae* (کنه‌های بالغ نر و ماده) و زیره سبز *Cuminum cyminum* L. و گشنیز *Coriandrum sativum* L. روی سفیدبالک پنبه *B. tabaci* (پوره سن اول و سوم) و هم‌چنین، ارزیابی اثرات تولید نانوفرمولاسیون با استفاده از پلیمر کیتوزان روی این خاصیت انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

پرورش گیاهان میزبان

در پژوهش حاضر از گیاه لوبیا چیتی *Phaseolus vulgaris* L. رقم خمین[6] به عنوان گیاه میزبان کنه تارتن دولکه‌ای و گیاه خیار گلخانه‌ای رقم نگین[7] به عنوان میزبان سفیدبالک پنبه استفاده شد. بذرها قبل از کاشت درون پارچه‌های مرطوب جوانه‌دار شده و سپس، به کیسه‌های نشاء با ارتفاع ۲۰ و قطر دهانه ۱۵ سانتی‌متر که با خاک حاصلخیز مزرعه پر شده بودند، منتقل شدند. در طول مراحل رشد بوته‌ها، عملیات آبیاری هر دو روز و به صورت منظم صورت

[1]. Pyrethrum
[2]. Sabadilla
[3]. Neem
[4]. Nicotine
[5]. Riana
[6]. Khomein
[7]. Negin

پذیرفت. کوددهی گیاهان نیز بر اساس توصیه‌های کارشناسان محترم سازمان حفظ نباتات انجام شد. علاوه بر این، در طول مراحل پرورش گیاهان، هیچ‌گونه آفت‌کش شیمیایی مورد استفاده قرار نگرفت. پرورش گیاهان در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج در دمای ۵ ± ۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۱۵ ± ۷۵ درصد و شرایط نوری طبیعی انجام شد.

پرورش و هم‌سن‌سازی کنه تارتن دولکه‌ای و سفیدبالک پنبه

برگ‌های آلوده به مراحل مختلف رشدی کنه تارتن دولکه‌ای یا سفیدبالک پنبه جمع‌آوری شده از گلخانه‌های شهر یاسوج، پس از قرار گرفتن درون کیسه‌های پلاستیکی به آزمایشگاه منتقل شدند. در آزمایشگاه، نمونه‌ها به دقت زیر استریومیکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفته و پس از حذف دشمنان طبیعی، افراد آلوده و سایر آفات، به منظور افزایش جمعیت روی دیسک برگی که برای کنه تارتن دولکه‌ای و سفیدبالک پنبه به ترتیب از برگ گیاهان لوبیا و خیار تهیه شده بود، قرار گرفتند. به منظور تهیه این دیسک‌ها، برگ‌های خیار و لوبیا به صورت دایره‌هایی به قطر ۱۰ سانتی‌متر بریده شده و در کف پتری‌های شیشه‌ای به قطر ۱۵سانتی‌متر به گونه‌ای که پشت آن‌ها رو به بالا باشد، روی یک لایه نازک پنبه مرطوب قرار گرفتند. دیسک‌های مذکور به مدت ۱۰ روز درون ژرمیناتور در شرایط دمایی ۲ ± ۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵ ± ۶۵ درصد و دوره روشنایی ۱۶ ساعت نگهداری شده و سپس، روی گیاهان پرورش یافته درون گلخانه به تفکیک آفت در قفس‌های توری با مش ریز و ابعاد ۱×۱×۱ متر رهاسازی شدند.

به‌منظور هم‌سن‌سازی، برگ‌های حاوی کنه‌های بالغ (نر و ماده) از بوته‌های لوبیای آلوده در شرایط گلخانه جدا شده و تعداد ۱۰۰۰ کنه بالغ (نر + ماده) روی دیسک‌های برگی تهیه شده از این گیاه قرار داده شدند. دیسک‌های برگی به مدت ۲۴-۴۸ ساعت درون ژرمیناتور نگهداری شدند. پس از این مدت، کنه‌های بالغ از دیسک‌های برگی برداشته و برای تخم‌ریزی مجدد به دیسک‌های جدید منتقل شدند. برگ‌های حاوی تخم‌های کنه درون ژرمیناتور با شرایط بیان‌شده نگهداری شدند. بعد از تفریخ تخم‌ها و گذشت حدود ۱۰-۱۲ روز، کنه‌های بالغ (نر و ماده) هم‌سن ظاهر شده و از آن‌ها برای انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی استفاده شد.

به‌منظور به دست آوردن پوره‌های سنین اول و سوم سفیدبالک پنبه، پنج بوته سالم خیار به مدت ۴۸ ساعت در میان کلنی موجود در شرایط گلخانه قرار داده شدند. سپس، با اطمینان از استقرار حشرات بالغ روی گیاهان سالم و انجام تخم‌ریزی، بوته‌ها از کلنی خارج و پس از حذف حشرات بالغ، به قفس جداگانه منتقل شدند. بوته‌های مذکور که حاوی تخم‌های هم‌سن سفیدبالک بودند، به صورت روزانه با استفاده از لوپ دستی مورد بازبینی قرار گرفتند. در نهایت، برگ‌های حاوی پوره‌های سن اول برای انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی از گیاه جدا شده و به آزمایشگاه منتقل شدند. سایر برگ‌ها نیز تا زمان ظهور پوره‌های سن سوم روی گیاه حفظ شدند. تشخیص پوره‌های سن سوم سفیدبالک با توجه به چشم‌ها و اندازه بزرگ‌تر آن‌ها صورت پذیرفت (Shishebour, 2002).

تهیه عصاره‌های گیاهی

به‌منظور تهیه عصاره آبی از اندام‌های هوایی گیاهان مدنظر شامل رزماری، اسطوخودوس، اکالیپتوس، ترخون، زیره سبز و گشنیز، به ازای هر ۱۰ گرم گیاه پودر شده ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل درون ارلن‌های شیشه‌ای به حجم ۵۰۰ میلی‌لیتر اضافه شد و ارلن‌ها به مدت ۴۸ ساعت با چرخش ۱۲۰ دور در دقیقه، روی دستگاه شیکر قرار داده شدند. سپس، عصاره‌های مورد نظر ابتدا از پارچه نخی و در مرحله بعد از کاغذ صافی استریل شده عبور داده شدند. در نهایت، عصاره‌ها برای تغلیظ در شرایط سترون و زیر هود درون ظرف‌های شیشه‌ای در باز و با قطر ۲۰ سانتی‌متر ریخته شدند. پس از خشک شدن کامل، عصاره‌ها به وسیله تیغ استریل از کف ظرف‌ها تراشیده شده و درون شیشه‌های تیره رنگ ریخته و تا زمان استفاده درون یخچال با دمای پنج درجه سلسیوس نگهداری شدند.

تهیه نانوکپسول

به منظور تهیه فرمولاسیون نانو از عصاره‌های گیاهی به دست آمده، از روش پیشنهادی احمدی و همکاران

(Ahmadi *et al*., 2017) استفاده شد. بدین‌منظور، ابتدا مقدار ۰/۱ گرم از کیتوزان در ۵۰ میلی‌لیتر استیک اسید (۱٪ در آب) با تکان‌دهنده مغناطیسی حل شد. سپس، ۰/۱۲ گرم پلی‌سوربیت به محلول کیتوزان اضافه شده و اجازه داده شد که برای ده دقیقه به عنوان محلول همگن هم‌زده شود. در مرحله بعد، مقدار مورد نظر از عصاره گیاهی (بین ۰/۲ تا ۰/۳ گرم) به محلول اضافه و به مدت یک ساعت با دور ۵۰۰ در دقیقه روی شیکر قرار داده شد. در نهایت، محلول تریپلی فسفات به آرامی به محلول حاصل اضافه شده و بار دیگر به مدت یک ساعت با دور ۵۰۰ در دقیقه تکان داده شد.

آزمایش‌های زیست‌سنجی

زیست‌سنجی عصاره‌های گیاهی به صورت خالص و فرموله شده برای هر دو آفت گلخانه‌ای به روش سمیت تماسی و بر اساس روش صالحی‌امیری و همکاران (Salehi Amiri *et al*., 2019) برای کنه تارتن دولکه‌ای و عالیچی و همکاران (Alichi *et al*., 2019) برای سفیدبالک پنبه انجام پذیرفت. گیاهان رزماری، اسطوخودوس، اکالیپتوس و ترخون برای ارزیابی میزان سمیت روی کنه تارتن دولکه‌ای (افراد بالغ نر و ماده) و گیاهان زیره سبز و گشنیز روی سفیدبالک پنبه (پوره‌های سنین اول و دوم) مورد ارزیابی قرار گرفتند. ابتدا محلول پایه که دارای بالاترین غلظت بود ساخته شده و سپس سایر غلظت‌ها با استفاده از رقیق‌سازی پیاپی[1] تهیه شدند. قبل از انجام آزمایش‌های اصلی، آزمایش‌های مقدماتی برای تعیین محدوده غلظت‌های مؤثر انجام گرفت و بر اساس آن، پایین‌ترین و بالاترین غلظتی که کم‌ترین (۲۰) و بیش‌ترین (۸۰) درصد مرگ و میر را ایجاد کردند، مشخص شدند (Ruberston *et al*., 1998). بر اساس نتایج به دست آمده از آزمایش‌های مقدماتی، هشت غلظت برای انجام آزمایش‌های اصلی هر عصاره گیاهی و فرمولاسیون نانو آن‌ها انتخاب شدند و در چندین تکرار مورد بررسی قرار گرفتند. آزمایش‌ها با استفاده از دیسک‌های برگی (قطر شش سانتی‌متر) که روی یک لایه پنبه نازک مرطوب در کف ظروف پتری قرار گرفته بود، اجرا شدند. تعداد کنه تارتن مورد مطالعه در هر تکرار ۱۵ عدد و تعداد پوره سنین اول و سوم سفیدبالک پنبه در هر تکرار نیز به ترتیب ۲۰ و ۱۵ فرد در نظر گرفته شد. پس از انتقال افراد به محیط آزمایش و استقرار آن‌ها روی برگ، غلظت‌های تهیه شده با استفاده از اسپری دستی روی سطح دیسک‌های برگی پاشیده شدند (Alichi *et al*., 2019). پس از ۳۰ دقیقه و خشک شدن سطح دیسک‌ها، درب پتری‌ها بسته شد و ظروف مورد مطالعه به درون ژرمیناتور منتقل شدند. برای تهویه، درب پتری‌ها سوراخ شده (قطر چهار سانتی‌متر) و روی آن‌ها با توری حریر پوشانده شد. میزان مرگ و میر افراد مورد مطالعه در هر تکرار پس از ۷۲ ساعت ثبت شد. افراد مورد مطالعه در صورت تغییر رنگ و عدم حرکت ضمائم بدن در اثر تحریک با قلم‌مو، به عنوان مرده در نظر گرفته شدند (Roh *et al*., 2011).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

به منظور تعیین ترکیبات شیمیایی موجود در عصاره استخراج شده از گیاهان مختلف مورد مطالعه، از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا[2] مدل L-300 ساخت شرکت Rigol کشور چین که مجهز به پمپ چهارتایی فشار قوی (سریال L-3200 که می‌تواند با فشار کار ۱۰ میلی‌لیتر در دقیقه به فشار کار (62Mpa) 9000psi برسد) و آشکارساز ماوراء بنفش می‌باشد، استفاده شد. تجزیه آماری داده‌های حاصل از آزمایش‌های زیست‌سنجی نیز با استفاده از رویه پروبیت و نرم‌افزار آماری SPSS (Ver.22) انجام گرفت.

نتایج و بحث

آنالیز ترکیبات شیمیایی عصاره‌های گیاهی با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)

کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، روشی مناسب جهت جداسازی، اندازه‌گیری و تعیین نوع مواد شیمیایی موجود در اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی است. در این نوع روش، با استفاده از استانداردهای ویژه می‌توان برخی از ترکیبات فنلی

[1]. Serial dilutions

[2]. HPLC

مانند فرولیک اسید[1]، کوماریک اسید[2]، گالیک اسید[3]، وانیلیک اسید[4]، سیرینجیک اسید[5]، کاتکول[6] و پروتوکاتکوئیک اسید[7] را که درصد تشکیل‌دهنده آن‌ها در هر عصاره گیاهی متفاوت می‌باشد، شناسایی کرد (Mradu *et al.*, 2012). در کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، نتایج به صورت پیک ترسیم شده و ارزیابی پیک‌ها بر اساس زمان بازداری[8] و مساحت زیر آن‌ها صورت می‌گیرد. از آن‌جا که زمان بازداری برای هر ماده در یک سامانه و شرایط آزمایشگاهی ثابت و مشخص است، معیار مناسبی برای تعیین نوع آن ماده می‌باشد. به‌منظور تعیین کمیت ماده شناسایی شده نیز سطح زیر پیک و یا ارتفاع آن با نمونه استاندارد مقایسه می‌شود (Mradu *et al.*, 2012).

در جدول شماره ۱، ترکیبات فنلی موجود در عصاره‌های آبی گیاهان مورد مطالعه در پژوهش حاضر، به‌همراه مقدار آن‌ها برحسب درصد بیان شده است. بر همین اساس، مشخص شد که بیش‌ترین میزان ترکیبات فنلی موجود در گیاهان اکالیپتوس، رزماری، اسطوخودوس، زیره سبز، گشنیز و ترخون را به ترتیب کوئرستین (۷۶/۶۲٪)، سالیسیلیک‌اسید (۲۱/۶۸٪)، سالیسیلیک‌اسید (۳۳/۹۰٪)، کوئرستین (۱۵/۶۸٪)، سالیسیلیک‌اسید (۹/۹۰٪) و کوئرستین (۲۳/۴۹٪) تشکیل می‌دهند.

در پژوهش حاضر، دو ترکیب کوئرستین (۷۶/۶۲ ٪) و گالیک‌اسید (۲۶/۸۳ ٪) بیش‌ترین سهم را در میان ترکیبات فنلی استخراج شده از عصاره آبی گیاه اکالیپتوس به خود اختصاص دادند (جدول ۱). وجود این ترکیبات در عصاره اکالیپتوس، در بررسی‌های پیشین نیز اشاره شده است (Makhlouf *et al.*, 2010; Santos *et al.*, 2012). پنج ماده رزمارینیک‌اسید[9]، فرولیک‌اسید، سالیسیلیک‌اسید، وانیلیک‌اسید و سینامیک‌اسید[10] در عصاره مورد بررسی از گیاه رزماری یافت شدند که از این میان، سالسیلیک‌اسید (۲۱/۶۸ ٪) و فرولیک‌اسید (۱۸/۳۵ ٪) بیش‌ترین میزان را به خود اختصاص دادند (جدول ۱). منا و همکاران (Mena *et al.*, 2016) بیان نمودند که عصاره رزماری حاوی ۲۴ فلاونوئید، ۵ اسید فنلیک و ۲۴ دی‌ترپنوئید است و ترکیب غالب نیز کارنوسیک اسید[11] می‌باشد. در پژوهشی دیگر، مشخص شد که عصاره مورد بررسی گیاه رزماری شامل ترکیبات رزمارینیک‌اسید و کارنوسیک‌اسید می‌باشد (Jacotet-Navarro *et al.*, 2018).

آنالیز عصاره استخراج شده از گیاه اسطوخودوس نشان داد که ترکیبات فنلی کلروژنیک‌اسید[12]، گالیک‌اسید، آمبلی‌فرون[13]، ویتکسین[14] و ایزوکورزیتروسید[15] بیش‌ترین درصد را به خود اختصاص می‌دهند (Radulescu *et al.*, 2017). در مطالعه‌ای دیگر، کارمن دودا و همکاران (Carmen Duda *et al.*, 2015) بیان کردند که لوتئولین[16] و فرولیک‌اسید بیش‌ترین سهم را به خود اختصاص می‌دهند. در پژوهش حاضر نیز سالیسیلیک‌اسید و کوماریک‌اسید به‌ترتیب با ۳۳/۹۰ و ۱۸/۱۲ درصد، بیش‌ترین سهم را به خود اختصاص دادند. علاوه بر این، فرولیک‌اسید نیز ۱۲/۲۵ درصد از ترکیبات شناسایی شده را شامل شد (جدول ۱).

در آنالیز کروماتوگرافی مایع فاز معکوس انجام‌گرفته توسط ربی و همکاران (Rebey *et al.*, 2011) برای شناسایی ترکیبات فنلی موجود در عصاره الکلی زیره سبز بیان شد که عصاره‌ها شامل اسیدهای فنلی گالیک‌اسید، کافئیک‌اسید، دی‌هیدروکسی فنلیک‌اسید[17]، دی‌هیدروکسی بنزوئیک‌اسید و رزمارینیک اسید و فلاونوئیدهایی نظیر

1. Ferulic acid
2. ρ-Coumaric acid
3. Gallic acid
4. Vanillic acid
5. Syringic acid
6. Catechol
7. Protocatechuic acid
8. Retention time
9. Rosmarinic acid
10. Cinnamic acid
11. Carnosic acid
12. Chlorogenic acid
13. Umbelliferone
14. Vitexin
15. Isoquercitroside
16. Luteolin
17. Dihydroxyphenolic acid

فلاون[1]، کومارین[2]، آپیجنین[3]، کوئرستین و کاتچین[4] می‌باشند که سهم گروه دوم به مراتب کم‌تر است. مشابه با پژوهش حاضر (جدول ۱)، طبق پژوهش‌های صورت‌گرفته توسط بتایب و همکاران (Bettaieb *et al*., 2010)، ترکیب فنلی اصلی موجود در ریشه گیاه زیره سبز کوئرستین (۲۶٪) می‌باشد، در حالی‌که وجود ترکیبات کوماریک، رزمارینیک‌اسید، دی‌هیدروسینامیک اسید[5] و رزورسینول[6] در ساقه و برگ‌ها گزارش شده است. علاوه بر این، در گل‌های این گیاه مقدار قابل توجهی وانیلیک‌اسید (۵۱٪) به عنوان ترکیب اصلی شناسایی شده است. در پژوهش حاضر، ترکیبات کوئرستین (۱۵٪/۶۸)، کاتچین (۴٪/۸۹) و وانیلیک‌اسید (۴٪/۱۵) بیش‌ترین درصد ترکیبات فنلی در عصاره استخراج شده از زیره سبز را به خود اختصاص دادند.

جدول ۱- آنالیز ترکیبات شیمیایی (٪) عصاره آبی گیاهان مورد مطالعه با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

Table 1. Analysis of chemical compounds (%) of aqueous extracts using the high-performance liquid chromatography (HPLC)

Chemical compounds	Plants					
	Eucalyptus	Rosemary	Lavender	Cumin	Coriander	Tarragon
Gallic acid	26.83	0.00	1.37	2.30	2.21	0.00
Protocatechuic acid	0.79	0.00	0.00	0.91	5.87	0.00
p-Hydroxy benzoic acid	8.45	0.00	12.67	0.00	1.32	0.00
catechin	4.64	0.00	0.00	4.89	0.00	4.31
Vanillic acid	3.38	5.14	0.00	4.15	0.00	2.21
vanilin	3.51	0.00	0.00	0.37	0.00	0.00
p-Coumaric acid	0.75	0.00	1.22	0.86	0.00	1.45
Ferolic acid	0.00	18.35	12.25	0.00	0.00	0.00
m-Coumaric acid	0.00	0.00	18.12	0.00	0.00	0.50
quercetin	76.62	0.00	0.00	15.68	0.00	23.49
Cinnamic acid	0.00	6.39	0.00	0.00	0.00	1.00
Rosmarinic acid	0.00	0.34	0.00	0.00	0.00	0.00
Salcillic acid	0.00	21.68	33.90	0.00	9.90	3.24

در آنالیز عصاره متانولی استخراج شده از بذر گیاه گشنیز، ترکیبات شیمیایی گالیک‌اسید، کافئیک‌اسید، الاجیک‌اسید[7]، کوئرستین و کامپفرول[8] شناسایی شدند (Dua *et al*., 2014). در پژوهش حاضر نیز گالیک‌اسید (۲/۲۱ ٪) در عصاره مورد مطالعه این گیاه شناسایی شد. البته لازم به ذکر است که بیش‌ترین درصد ترکیبات فنلی شناسایی شده در عصاره آبی این گیاه پس از سالیسیلیک‌اسید (۹/۹۰ ٪)، مربوط به پرتوکاتکوئیک‌اسید[9] (۵/۸۷ ٪) بود (جدول ۱).

در یکی از پژوهش‌های صورت گرفته، ماده مؤثره‌های فنلیک موجود در برگ ترخون عبارت از گالیک‌اسید، فرولیک‌اسید، سیرینجیک‌اسید، وانیلیک‌اسید، کافئیک‌اسید[10]، هیدروکسی‌بنزوئیک‌اسید[11] و روتین[12] مشخص شدند (Khezrilu & Heidari, 2014). میرون و همکاران (Miron *et al*., 2011) نیز ترکیبات فنلی مانند سیرینجیک‌اسید، وانیلیک‌اسید، هیدروکسی‌بنزوئیک‌اسید و کوماریک‌اسید را در ترخون گزارش کردند. نتایج پژوهش حاضر نیز حاکی از وجود دو ترکیب وانیلیک‌اسید (۲٪/۲۱) و کوماریک‌اسید (۱٪/۴۵) در عصاره آبی استخراج شده از گیاه ترخون بود.

1. Flavone
2. Coumarin
3. Apigenin
4. Catechin
5. Trans-2-dihydrocinnamic acid
6. Resorcinol
7. Ellagic acid
8. Kaempferol
9. Protocatechuic acid
10. Caffeic acid
11. p-Hydroxy benzoic acid
12. Rutin

متفاوت بودن ترکیبات موجود در عصاره گیاهان مورد مطالعه در پژوهش حاضر با آن‌چه که توسط سایر پژوهش‌گران بیان شده است را می‌توان با تفاوت در محیط جغرافیایی، اندام گیاهی، مرحله رشدی گیاه و غیره مرتبط دانست. البته تفاوت در ترکیبات موجود در عصاره استخراج شده از قسمت‌های مختلف گیاه نیز موضوع بسیار مهمی است که در برنامه‌ریزی برای تولید آفت‌کش‌های گیاهی باید مورد توجه پژوهشگران این امر قرار گیرد. بدون تردید انجام چنین بررسی‌هایی کمک شایانی به انتخاب بهترین گیاهان و مناسب‌ترین مرحله رشدی آن‌ها برای تولید آفت‌کش‌های گیاهی می‌نماید.

بررسی سمیت تماسی عصاره‌های خالص و نانوفرمولاسیون آن‌ها روی کنه تارتن دولکه‌ای

براساس نتایج به دست آمده در بررسی حاضر، غلظتی از عصاره‌های آبی مورد مطالعه که باعث مرگ و میر ۵۰ ٪ (LC_{50}) در جمعیت کنه‌های بالغ مورد بررسی قرار گرفت، برای گیاهان رزماری، اسطوخودوس، اوکالیپتوس و ترخون به‌ترتیب برابر با ۳۲۲۷، ۷۵۴۰، ۵۲۷۳ و ۴۰۹۱ پی‌پی‌ام برآورد شد. بر همین اساس، بیش‌ترین و کم‌ترین سمیت عصاره‌های مورد مطالعه به‌ترتیب مربوط به دو گیاه رزماری و اسطوخودوس بود که باتوجه به عدم هم‌پوشانی حدود اطمینان، اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشتند (جدول ۲). تاکنون پژوهش‌های متنوعی به‌منظور بررسی اثرات کشندگی عصاره‌های گیاهی روی مراحل مختلف زیستی کنه تارتن دولکه‌ای صورت گرفته و نتایج مثبتی ارائه شده است. در پژوهشی، پاولا (Pavela, 2016) خاصیت کنه‌کشی عصاره آبی استخراج شده از گیاهان خلال دندان *Ammi visnaga* (L.)، شیرین بیان *Glycyrrhiza glabra* L.، کالومبا *Jateorhiza palmate* (Lam.)، مرزنجوش *Origanum majorana* L. و صابونی *Saponaria officinalis* L. را علیه مرحله بالغ کنه تارتن دولکه‌ای مورد بررسی قرار داد. نتایج به‌دست آمده حاکی از کشندگی ۹۰ درصدی برخی از عصاره‌های مورد مطالعه بود. آنتونیوس و همکاران (Antonious *et al*., 2006) در بررسی سمیت عصاره متانولی ۲۴ گونه مختلف فلفل روی کنه تارتن دولکه‌ای مشخص نمودند که تنها عصاره فلفل قرمز *Capsicum annuum* L. بعد از گذشت ۲۴ ساعت درصد کشندگی قابل قبولی از خود نشان داد. فعالیت کنه‌کشی عصاره کلروفرمی، متیل‌استاتی و آبی گیاه علوفه‌ای کوشیا *Kochia scoparis* (L.) علیه کنه *T. urticae* نیز توسط شی و همکاران (Shi *et al*., 2006) مورد آزمایش قرار گرفت و مشاهده شد که عصاره کلروفرمی دارای بیش‌ترین و عصاره آبی دارای کم‌ترین درصد کشندگی بود. در بررسی اثرات کشندگی اسانس سه گیاه گل گندم *Micromeria fruticosa* L.، پونه‌سای خوشه‌ای *Nepeta racemosa* L. و پونه کوهی *Origanum vulgare* L. توسط کالماسور و همکاران (Calmasur *et al*., 2006)، مشخص شد که میزان سمیت این گیاهان علیه کنه *T. urticae* بسیار قابل توجه می‌باشد. اختلاف یافته‌های سایر پژوهشگران با نتایج به‌دست آمده در پژوهش حاضر ناشی از تفاوت در نوع ترکیبات گیاهی، میزبان گیاهی و جمعیت کنه مورد مطالعه می‌باشد.

فرموله کردن عصاره‌های گیاهی مورد مطالعه در پژوهش حاضر با استفاده از پلیمر کیتوزان سبب افزایش میزان کشندگی آن‌ها علیه کنه تارتن دولکه‌ای شد. با توجه به عدم هم‌پوشانی حدود اطمینان محاسبه شده، این تفاوت در مورد دو گیاه اسطوخودوس و ترخون معنی‌دار بود (جدول ۲). باتوجه به این‌که فرمولاسیون‌های نانو مزیت‌های متعددی نظیر افزایش مدت زمان نگهداری و ماندگاری ترکیبات گیاهی و آزادسازی آرام مواد مؤثره آن‌ها در محیط مورد استفاده دارند، افزایش میزان کشندگی آن‌ها نیز عامل مثبت دیگری است که در این پژوهش مورد توجه قرار گرفت. در بررسی اثرات فرمولاسیون میکروکپسوله شده عصاره بذر گیاه شوگر اپل (سیب کاستارد) *Annona squamosal* L. و بررسی میزان کشندگی آن علیه کنه تارتن دولکه‌ای که توسط ماسیل و همکاران (Maciel *et al*., 2019) صورت گرفت، بیان شد که LC_{99} عصاره‌های خالص هگزانی و اتانولی و میکروکپسوله به‌ترتیب برابر با ۲۶/۰۵، ۵۳/۲۷ و ۴۵/۲۶ گرم بر لیتر می‌باشد که این مسأله بیان‌گر این است که اگرچه عصاره هگزانی سمیت بیش‌تری از خود نشان داد، اما میکروکپسول‌ها نیز نسبت به عصاره اتانولی سمیت بیش‌تری

داشتند. این پژوهشگران اختلافات مشاهده شده را ناشی از تفاوت در میزان قطبیت حلال‌های مورد استفاده در استخراج عصاره گیاهی دانسته و بیان می‌کنند که هرچه میزان قطبیت حلال مورد استفاده کم‌تر باشد، فعالیت آفت‌کشی آن بیش‌تر خواهد بود.

جدول ۲ – سمیت عصاره‌های آبی و فرموله شده گیاهان رزماری، اسطوخودوس، اکالیپتوس و ترخون علیه کنه‌های بالغ *Tetranychus urticae* پس از ۷۲ ساعت

Table 2. Toxicity of aqueous and formulated extracts of rosemary, lavender, eucalyptus and tarragon on the adults of *Tetranychus urticae* after 72 hours

Plants	Treatments	N	*df*	Chi-square	LC_{50} (ppm) (Min-Max)	*P*-value
Rosemary	Aqueous extract	90	5	6.04	3227 (2467 - 4063)	0.30
	Nanoformulation	90	5	5.86	2166 (1502 - 2878)	0.32
Lavender	Aqueous extract	90	5	7.16	7540 (6953- 7488)	0.20
	Nanoformulation	90	4	9.28	3741 (3009- 4656)	0.54
Eucalyptus	Aqueous extract	90	5	5.36	5273 (4290 -6750)	0.37
	Nanoformulation	90	4	3.93	4687 (3609- 6220)	0.78
Tarragon	Aqueous extract	90	7	11.60	4091 (3375-5038)	0.11
	Nanoformulation	90	7	8.84	1454 (1067-1860)	0.26

N.: Number of individuals

بررسی سمیت تماسی عصاره‌های خالص و نانوفرمولاسیون آن‌ها روی سفیدبالک پنبه

نتایج ارائه شده در جدول‌های ۳ و ۴ نشان دهنده آن است که پوره‌های سن اول سفیدبالک پنبه حساسیت بیش‌تری نسبت به عصاره‌های استخراج شده از گیاهان زیره سبز و گشنیز نسبت به پوره‌های سن سوم داشتند. باتوجه به مقدار پایین‌تر LC_{50} محاسبه شده و عدم هم‌پوشانی حدود اطمینان، عصاره استخراج شده از گیاه زیره سبز نسبت به گشنیز سمیت بیش‌تری علیه پوره‌های سن اول این آفت از خود نشان داد (جدول ۳). نانوکپسوله کردن نیز به صورت معنی‌داری سمیت عصاره زیره سبز را در مقایسه با عصاره آبی خالص افزایش داد. اگرچه نانو کپسوله کردن باعث افزایش میزان سمیت عصاره آبی استخراج شده از گیاه گشنیز علیه پوره‌های سن اول سفیدبالک پنبه نیز شد، اما اختلاف مشاهده شده از نظر آماری معنی‌دار نبود (جدول ۳). در مورد پوره‌های سن سوم سفیدبالک، به صورت مشابه، میکروکپسوله کردن باعث افزایش معنی‌دار میزان سمیت عصاره زیره سبز شد در حالی‌که این اختلاف در مورد عصاره آبی و فرمولاسیون میکروکپسول گیاه گشنیز مشاهده نشد (جدول ۴). مشابه با یافته‌های پژوهش حاضر، بررسی صورت گرفته در خصوص ارزیابی اثرات کشندگی عصاره زیتون تلخ روی پوره‌های سنین مختلف سفیدبالک پنبه مشخص نمود که با افزایش سن پوره‌ها، حساسیت آن‌ها نسبت به عصاره مورد مطالعه کم‌تر شده است (Abou-Fakhr & Mcauslane, 2006). ارزیابی اثرات عصاره آبی گیاه سوبابل *Leucaena leucocephala* Linne روی تخم‌ها و پوره‌های سفیدبالک پنبه، اثرات ضدتخم‌ریزی عصاره گیاهی مورد مطالعه را مشخص نمود. هم‌چنین، مشخص شد که افزایش سن پورگی موجب کاهش میزان حساسیت نسبت به عصاره مورد مطالعه شده است (Vasconcelos *et al.*, 2006).

جدول ۳ - سمیت عصاره‌های آبی و فرموله شده گیاهان زیره سبز و گشنیز علیه پوره‌های سن اول سفیدبالک *Bemisia tabaci* پس از ۷۲ ساعت

Table 3. Toxicity of aqueous and formulated extracts of cumin and coriander on the first instar of *Bemisia tabaci* after 72 hours

Plants	Treatments	N	*df*	Chi-square	LC_{50} (ppm) (Min-Max)	*P*-value
Cumin	Aqueous extract	120	5	5.64	9639 (8733 - 10471)	0.34
	Nanoformulation	120	5	7.93	6748 (5498 - 8385)	0.16
Coriander	Aqueous extract	120	6	5.93	11637 (10943- 12371)	0.43
	Nanoformulation	120	5	1.90	10288 (10107- 11591)	0.86

N.: Number of individuals

جدول ۴ - سمیت عصاره‌های آبی و فرموله شده گیاهان زیره سبز و گشنیز علیه پوره‌های سن سوم سفیدبالک *Bemisia tabaci* پس از ۷۲ ساعت

Table 4. Toxicity of aqueous and formulated extracts of cumin and coriander on the third instar of *Bemisia tabaci* after 72 hours

Plants	Treatments	N	*df*	Chi-square	LC_{50} (ppm) (Min-Max)	*P*-value
Cumin	Aqueous extract	90	7	6.13	11670 (11110 - 12267)	0.52
	Nanoformulation	90	6	3.70	9937 (9452 - 10404)	0.71
Coriander	Aqueous extract	90	8	9.61	12358 (11561- 13216)	0.29
	Nanoformulation	90	8	7.81	11185 (10450- 11939)	0.45

N.: Number of individuals

اغلب پژوهش‌های ارزیابی اثرات کشندگی ترکیبات گیاهی مربوط به آفات انباری بوده و توجه کم‌تری به سایر آفات معطوف شده است. پژوهش حاضر ضمن بررسی اثرات کشندگی عصاره‌های آبی استخراج شده از برخی گیاهان علیه کنه تارتن دولکه‌ای و سفیدبالک پنبه، تأثیر نانوفرمولاسیون بر میزان سمیت آن‌ها را نیز مورد مطالعه قرار داد. یافته‌های ارائه‌شده در این بررسی حاکی از آن بود که در تمام موارد، نانوکپسول‌های تهیه شده با استفاده از پلیمر زیستی کیتوزان، سمیت بیش‌تری در مقایسه با عصاره‌های خالص مورد مطالعه داشتند. علاوه بر این، تفاوت‌های مشاهده شده در میزان کشندگی عصاره‌های مورد مطالعه مرتبط با نوع و میزان ترکیبات شیمیایی آن‌ها می‌باشد که بررسی آن‌ها زمینه مناسبی برای انجام پژوهش‌های تکمیلی در این زمینه فراهم می‌نماید. البته باید به این نکته توجه نمود که شناسایی ترکیبات شیمیایی مسئول کشندگی عصاره‌های گیاهی و تعیین درصد آن‌ها در بافت‌ها و مراحل مختلف رشدی گیاه، تأثیر غیرقابل انکاری بر میزان موفقیت برنامه‌های تجاری‌سازی این گروه از آفت‌کش‌ها خواهد داشت. بدون تردید، استفاده از آفت‌کش‌های گیاهی از جمله راهکارهایی است که به منظور کاهش اثرات نامطلوب استفاده از ترکیبات شیمیایی در فرآیند تولید محصولات کشاورزی، بسیار قابل توجه می‌باشد. بر همین اساس، نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر می‌تواند زیربنای مناسبی برای استفاده از چنین ترکیباتی در برنامه‌های مدیریتی کنه‌های تارتن و سفیدبالک‌ها در شرایط گلخانه فراهم آورد.

سپاسگزاری

پژوهش حاضر با حمایت مالی دانشگاه یاسوج صورت پذیرفته است و نویسندگان بدین‌وسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را اعلام می‌دارند.

References

Abou-Fakhr, H., & Mcauslane, H. J. (2006). Effect of *Melia azadrach* L. extraxt on *Bemisia argentifolii* (Hemiptera:Aleyrodidae) and its biocontrol agent *eretmocerus rui* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Environmental Entomology, 35*(3), 740- 745. **DOI: https://doi.org/10.1603/0046-225X-35.3.740.**

Ahmadi, Z., Saber, M., Bagheri, M., & Mahdavinia, G. R. (2017). *Achillea millefolium* essential oil and chitosan nanocapsules with enhanced activity against *Tetranychus urticae*. *Journal of Pest Science, 91*(2), 837-848. **DOI: https://doi.org/10.1007/s10340-017-0912-6.**

Ahmed, M. Z., Barro, P. J. De, Greeff, M. J., Ren, S.X., Naveed, M., & Qiu, B. L. (2011). Genetic identity of the *Bemisia tabaci* species complex and association with high cotton leaf curl disease (CLCuD) incidence in Pakistan. *Pest Management Science, 67*, 307-317. **DOI: https://doi.org/10.1002/ps.2067.**

Alichi, M., Roosta, S., Bagheri, F., & Minaei, K. (2019). Effect of golder (*Rydingia persica*) and myrtle (*Myrtus communis*) extracts in controlling *Bemisia tabaci* on tomato under laboratory conditions. *Plant Pest Research*, *9*(3), 29-39. (in Farsi)

Antonious, G. F., Meyer, J. E., & Snyder, J. C. (2006). Toxicity and repellency of hot pepper extracts to spider mite, *Tetranychus urticae* Koch. *Journal of Environmental Science and Health Part B, 41*(8), 1383-1391. **DOI: https://doi.org/10.1080/0360123060096419.**

Attia, S., Grissa, K. L., Lognay, G., Bitume, E., Hance, T., & Mailleux, A. C. (2013). A review of the major biological approaches to control the worldwide pest *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) with special reference to natural pesticides. *Journal of Pest Science, 86*(3), 361-386. **DOI: https://doi.org/10.1007/s10340-013-0503-0.**

Badawy, M. E. I., Abdelgaleil, S. A. M., Mahmoud, N. F., & Marei, A. E. S. M. (2018). Preparation and characterizations of essential oil and monoterpene nanoemulsions and acaricidal activity against two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). *International Journal of Acarology, 44*(7), 330-340. **DOI: https://doi.org/10.1080/01647954.2018.1523225.**

Bettaieb, I., Bourgou, S., Wannes, W. A., Hamrouni, I., Limam, F., & Marzouk, B. (2010). Essential oils, phenolics, and antioxidant activities of different parts of cumin (*Cuminum cyminum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58*(19), 10410-10418.

Calmasur, O., Aslan, I., & Sahin, F. (2006). Insecticidal and acaricidal effect of three Lamiaceae plant essential oils against *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. *Industrial Crops and Products, 23*(2), 140-146. **DOI: https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2005.05.003.**

Carmen Duda, S., Marghitas, L. A., Dezmirean, D., Duda, M., Margaoan, R., & Bobis, O. (2015). Changes in major bioactive compounds with antioxidant activity of *Agastache foeniculum, Lavandula angustifolia, Melissa officinalis* and *Nepeta cataria*: Effect of harvest time and plant species. *Industrial Crops and Products, 77*, 499- 507. **DOI: https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.09.045.**

Deng, Y., Shi, D., Yin, Z., Guo, J., Jia, R., Xu, J., Song, X., Lv, C., Fan, Q., Liang, X., & Shi, F. (2012). Acaricidal activity of petroleum ether extract of neem (*Azadirachta indica*) oil and its four fractions separated by column chromatograohy against *Sarcoptes scabiei* Var. Cuniculi larvae in vitro. *Experimental Parasitology, 130*(4), 475-477. **DOI: https://doi.org/10.1016/j.exppara.2012.02.007.**

Dua, A., Garg, G., Kumar, D., & Mahajan, R. (2014). Polyphenolic composition and antimicrobial potential of methanolic coriander (*Coriandrum sativum*) seed extract. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 5*(6), 2302-2308.

Feyzioglu, G. C., & Tornuk, F. (2016). Development of chitosan nanoparticles loaded with summer savory (*Satureja hortensis* L.) essential oil for antimicrobial and antioxidant delivery applications. *LWT-Food Science and Technology, 70*, 104-110. **DOI: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.02.037.**

Hu, X., Wang, Y., & Peng, B. (2014). Chitosan-capped mesoporous silica nanoparticles as pH-responsive nanocarriers for controlled drug release. *Chemistry-An Asian Journal, 9*(1), 319-327. **DOI: https://doi.org/10.1002/asia.201301105.**

Jacotet-Navarro, M., Laguerre, M., Fabiano-Tixier, A. S., Tenon, M., Feuillere, N., Bily, A., & Chemat, F. (2018). What is the best ethanol-water ratio for the extraction of antioxidants from rosemary? Impact of the solvent on yield, composition and activity of the extracts. *Electrophoresis, 39*, 1946-1956. **DOI: https://doi.org/10.1002/elps.201700397.**

Khanamani, M., Fathipour, Y., Hajiqanbar, H., & Sedaratian, A. (2012). Reproductive performance and life expectancy of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) on seven eggplant cultivars. *Journal of Crop Protection, 1*(1), 57-66.

Khanamani, M., Fathipour, Y., Talebi, A. A., & Mehrabadi, M. (2017). Evaluation of different artificial diets for rearing the predatory mite *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae): diet-dependent life table studies. *Acarologia, 57*(2), 407-419. **DOI: https://dx.doi.org/10.1051/acarologia/20174165.**

Kheradmand, K., Beynaghi, S., Asgari, S., & Sheykhi Garjan, A. (2015). Toxicity and repellency effects of three plant essential oils against two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Agricultural Science and Technology*, *17*, 1223-1232.

Khezrilu, B. J., & Heidari, R. (2014). The evaluation of antioxidant activities and phenolic compounds in leaves and inflorescence of *Artemisia dracunculus* L. by HPLC. *Journal of Medicinal Plants, 13*(51), 41-50.

Laborda, R., Manzano, I., Gamon, M., Gavidia, I., Perez-Bermudes, P., & Boluda, R. (2013). Effects of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis* essential oils on *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Journal of Industrial Crops and Products, 48*, 106-110. **DOI: https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.04.011.**

Maciel, A. D. G. S., Trindade, R. C. P., Basilio Junior, I. D., Santana, A. E. G., Silva, J. P. D., Santos, L. A. T., Silva, E. S., Freitas, J. D. D., & Nascimento, T. G. D. (2019). Microencapsulation of *Annona squamosal* L. (Annonaceae) seed extract and lethal toxicity to *Tetranychus urticae* Koch (1836) (Acari: Tetranychidae). *Industrial Crops and Products*, *127*, 251-259. **DOI: https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.10.084.**

Makhlof, A., Tozuka, Y., & Takeuchi, H. (2011). Design and evaluation of novel pH-sensitive chitosan nanoparticles for oral insulin delivery. *European Journal of Pharmaceutical Sciences, 42*(5), 445-451. **DOI: https://doi.org/10.1016/j.ejps.2010.12.007.**

Makhlouf, L., Meudec, E., Chibane, M., Mazauric, J. P., Slimani, S., Henry, M., Cheynier, V., & Madani, K. (2010). Analysis by high-performance liquid chromatography diode array detection mass spectrometry of phenolic compounds in fruit of *Eucalyptus globulus* cultivated in Algeria. *Agricultural and Food Chemistry, 58*, 12615-12624. **DOI: https://doi.org/10.1021/jf1029509.**

Mena, P., Cirlini, M., Tassotti, M., Herrlinger, K. A., Dallasta, C., & Del Rio, D. (2016). Phytochemical profiling of flavonoids, phenolic acid, terpenoids and volatile fraction of a rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract. *Molecules, 21*, 1-15. **DOI: https://doi.org/10.3390/molecules21111576.**

Miron, T. L., Plaza, M., Bahrim, G., Ibáñez, E., & Herrero, M. (2011). Chemical composition of bioactive pressurized extracts of Romanian aromatic plants. *Journal of Chromatography A, 1218*(30), 4918-4927. **DOI: https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.11.055.**

Mradu, G., Saumyakanti, S., Sohini, M., & Arup, M. (2012). HPLC profiles of standard phenolic compounds present in medicinal plants. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, *4*(3), 162-167.

Munin, A., & Edwards-Levy, F. (2011). Encapsulation of natural polyphenolic compounds; A review. *Pharmaceutics, 3*(4), 793-829. **DOI: https://doi.org/10.3390/pharmaceutics3040793.**

Natrajan, D., Srinivasan, S., Sundar, K., & Ravindran, A. (2015). Formulation of essential oil-loaded chitosan-alginate nanocapsules. *Journal of Food and Drug Analysis, 23*(3), 560-568. **DOI: https://doi.org/10.1016/j.jfda.2015.01.001.**

Pavela, R. (2016). Acaricidal properties of extracts of some medicinal and culinary plants against *Tetranychus urticae* Koch. *Plant Protection Science*, *52*(1), 54-63. **DOI: https://doi.org/10.17221/62/2015-PPS.**

Pavela, R. (2007). Possibilities of botanical insecticide exploitation in plant protection. *Pest Technologies, 1*, 47-52.

Pimentel, D., Zuniga, R., & Morrison, D. (2005). Update of the environmental and economic costs associated with alien-invasive species in the United States. *Ecological Economics, 52*, 273-288. **DOI: https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2004.10.002.**

Radulescu, C., Stihi, C., Ilie, M., Lazurca, D., Gruia, R., Olaru, O. T., Bute, O., Dulama, I. D., Stirbescu, R. M., Teodorescu, S., & Florescu, M. (2017). Characterization of phenolics in *Lavandula angustifolia*. *Analytical Letters, 40*, 1-30. **DOI: https://doi.org/10.1080/00032719.2016.1264409.**

Rebey, I. B., Bourgou, S., Debez, I. B. S., Karoui, I. J., Sellami, I. H., Msaada, K., Limam, F., & Marzouk, B. (2011). Effects of extraction solvents and provenances on phenolic contents and

antioxidant activities of cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds. *Food and Bioprocess Technology, 5*(7), 2827-2836. **DOI: https://doi.org/10.1007/s11947-011-0625-4.**

Roh, H.S., Lim, E.G., & Kim, J. (2011). Acaricidal and oviposition deterring effects of santalol identified in sandalwood oil against two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Journal of Pest Science, 84*(4), 495-501. **DOI**: **https://doi.org/10.1007/s10340-011-0377-y.**

Ruberson, J., Nemoto, H., & Hirose, Y. (1998). Pesticides and conservation of natural enemies in pest management. *Conservation Biological Control*, 207-220. **DOI: https://doi.org/10.1016/B978-012078147-8/50057-8.**

Salehi Amiri, S., Mohammadi Sharif, M., & Hadizadeh, A. (2019). Biological effects of *Sambucus ebulus* L., *Urtica dioica* L., *Rubus fructicosus* Boiss. and *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn extracts against two-spotted spider mite. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 35*(4): 565-576. **DOI: https://doi.org/10.22092/ijmapr.2019.124763.2464.** (in Farsi)

Santos, S. A. O., Villaverde, J. J., Silva, C. M., Neto, C. P., & Silvesre, A. J. D. (2012). Supercritical fluid extraction of phenolic compounds from *Eucalyptus globulus* Labill bark. *The Journal of Supercritical Fluids, 71*, 71-79. **DOI: https://doi.org/10.1016/j.supflu.2012.07.004.**

Sarraf Moayeri, H. R., Pirayeshfar, F., Bolandnazar, A. R., & Faridi, B. (2014). Fumigant toxicity of cumin, spearmint and lavender essential oils against eggs and adults of two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Plant Pest Research, 4*(3), 1-13. (in Farsi)

Sedaratian-Jahromi, A., Fathipour, Y., & Moharramipour, S. (2009). Evaluation of resistance in 14 soybean genotypes to *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Pest Science, 82*(2), 163-170. **DOI: https://doi.org/10.1007/s10340-008-0235-8.**

Shi, G. L., Zhao, L. L., Liu, S. Q., Cao, H., Clarke, S. R., & Sun, J. H. (2006). Acaricidal activities of extracts of *Kochia scoparia* against *Tetranychus urticae*, *Tetranychus cinnabarinus*, and *Tetranychus viennensis* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Economic Entomology, 99*(3), 858-863. **DOI: https://doi.org/10.1093/jee/99.3.858.**

Shishebour, P. (2002). Whitefly (1st ed.). Shahid Chamran University Publication. (in Farsi)

Tapondjou, A. L., Adler, C., Fontem, D. A., Bouda, H., & Reichmuth, C. (2005). Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* du Val. *Journal of Stored Product Research, 41*, 91-102. **DOI: https://doi.org/10.1016/j.jspr.2004.01.004.**

Van Leeuwen, T., Vontas, J., Tsagkarakou, A., Dermauw, W., & Tirry, L. (2010). Acaricide resistance mechanisms in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* and other important acari: A review. *Insect Biochemistry and Molecular Biology, 40*(8), 563-572. **DOI: https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2010.05.008.**

Vasconcelos, G. N. D., Junior, M. G. C., & Barros, R. (2006). Aqueous extracts of *Leucaena leucocephala* and *Sterculia foetida* to the control of *Bemisia tabaci* biotypes (Hemiptera: Aleyrodidae). *Ciencia Rural, 36*(5), 1353-1359.

Zargar, V., Asghari, M., & Dashti, A. (2015). A review on chitin and chitosan polymers: structure, chemistry, solubility, derivatives, and applications. *ChemBioEng Reviews, 2*(3), 204-226. **DOI: https://doi.org/10.1002/cben.201400025.**

Plant Pest Research
2023- 13 (2): 67-80

Open access
doi: 10.22124/iprj.2023.25221.1531
pISSN: 2322-2409
eISSN: 2538-6123

Research paper

Effect of Nanoformulation on toxicity of some herbal extracts against two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* and Silverleaf whitefly *Bemisia tabaci*

F. Arajpour[1], R. Aziz Nesar[2], A. Sedaratian-Jahromi[3*] and M. Ghane-Jahromi[4]
Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran
ORCID iD: 1. 0009-0009-8028-9994, 2. 0000-0002-2709-3898, 3. 0000-0002-2588-2359, 4. 0009-0002-7219-904x

(Received: August 10, 2023- Accepted: September 13, 2023)

Abstract

The present study was designed to evaluate the lethal effects of aqueous extracts and nanoformulations of *Rosmarinus officinalis* L., *Lavandula angustifolia* Mill., *Eucalyptus globulus* Labill. and *Artemisia dracunculus* L. on *Tetranychus urticae* Koch (female and male adults) and *Cuminum cyminum* L. and *Coriandrum sativum* L. on *Bemisia tabaci* (Gennadius) (first and third instar) under laboratory conditions at 25 ± 2 ºC, 60% RH, and 16:8 h. photoperiod using contact toxicity method. Among aqueous and formulated extracts rosemary (LC_{50} = 3227 ppm) and tarragon (LC_{50} = 1454 ppm) had the highest toxicity against adult mites, respectively. Aqueous and formulated extracts of cumin also showed the highest toxicity with LC_{50} of 9639 and 6748 ppm on the first instar and 11670 and 9937 ppm on the third instar of *B. tabaci*, respectively. The first instar of *B. tabaci* showed more sensitivity to aqueous and formulated extracts than third ones. Based on the results of high-performance liquid chromatography (HPLC), Salcillic acid for rosemary (21.68%), lavender (33.90%) and coriander (9.9%), and quercetin for eucalyptus (76.62%), tarragon (23.49%) and cumin (15.68%) had the highest amount of chemical compounds. Our findings show the reliable toxicity of plant extracts and will facilitate the use of plant products in integrated pest management programs under greenhouse conditions.

Key words: Chromatography, Greenhouse pests, Integrated pest management, Nanoformulation

* Corresponding author: Sedaratian@yu.ac.ir