

تأثیر چند اسانس و عصاره گیاهی میکرو و نانوامولسیون شده روی سفیدبالک پنبه، *Bemisia tabaci* (Gennadius) در شرایط آزمایشگاه

علیرضا بلندنظر^{۱*}، محمد قدمیاری^۲، محمدرضا معمارزاده^۲ و جلال جلالی سندی^۳

۱- گروه گیاه پزشکی، پردیس دانشگاهی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران، ۲- مرکز تحقیقات گیاهان دارویی باریج، کاشان، ایران،

۳- گروه گیاه پزشکی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۶/۳/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۶/۸/۲۴)

چکیده

یکی از آفات مهم محصولات کشاورزی، سفیدبالک پنبه *Bemisia tabaci* می باشد. هرچند برخی اسانس ها و عصاره های گیاهی خواص حشره کشی مطلوبی علیه این آفت نشان داده اند، اما این ترکیبات با توجه به فرآوردن و ناپایداری، کمتر به صورت عملی و تجاری درآمده اند. در این مطالعه، به منظور افزایش کارایی و دوام اسانس های رزماری *Rosmarinus officinalis*، نعناع فلفلی *Mentha piperita* اکالیپتوس *Eucalyptus globules* و عصاره آویشن باغی *Thymus vulgaris* به صورت میکرو و نانوامولسیون فرموله شد و کارایی حشره کشی و دوام این ترکیبات روی سفیدبالک پنبه در شرایط آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفت. آزمون های زیست سنجی به روش غوطه ورسازی برگ های حاوی پوره سن دوم انجام و مقادیر LC_{50} ، LC_{90} و LT_{50} تخمین زده شد. همچنین نسبت تبدیل پوره سن دو زنده به حشره کامل زنده و میزان تخم گذاری (اثر زیرکشنندگی) در مقایسه با صابون گیاهی پالیزین[®]، آب مقطر و شاهد (بدون هیچ تیماری) تعیین شد. نتایج نشان داد که تیمار نانوامولسیون محتوی مجموع اسانس های مورد آزمون با LC_{50} ، LC_{90} ، LT_{50} به ترتیب ۰/۷۴۵۴ و ۳/۱۲۰۸ میلی گرم بر لیتر و ۱۵/۹۲ ساعت بیشترین تأثیر را روی این آفت داشت. همچنین این تیمار با نسبت تبدیل پوره سن دو به حشره کامل برابر با ۸۰ درصد و میانگین ۱۹۱/۳۳ تخم بیشترین اثربخشی را داشت. پس از آن تیمار میکروامولسیون محتوی مجموع اسانس ها و عصاره فوق نیز اثرات قابل قبولی داشت. این دو تیمار به عنوان ترکیبات امیدبخش شناخته شده و می توانند با انجام آزمون های تکمیلی به عنوان یک فرآورده کاربردی در مدیریت تلفیقی این آفت مورد استفاده قرار گیرند.

واژه های کلیدی: حشره کش گیاهی، سفیدبالک پنبه، سمیت، زیست سنجی

مقدمه

با توجه به نقش آفت کش‌های شیمیایی در کنترل آفات کشاورزی و چالش‌های ناشی از استفاده بی‌رویه از آن‌ها، معرفی جایگزین‌هایی با بقایای کم‌خطرتر در محیط و دارا بودن فعالیت آفت‌کشی قابل‌قبول‌تر در مقایسه با آفت‌کش‌های رایج، ناگزیر به نظر می‌رسد. گرایش به استفاده از ترکیب‌های طبیعی که ضمن سازگاری با محیط‌زیست، دارای ویژگی‌های آفت‌کشی مطلوب نیز باشند، رو به گسترش است و به همین دلیل امروزه حجم وسیعی از پژوهش‌ها روی آفت‌کش‌های زیست‌بنیاد (Biorational pesticides) متمرکز شده است (Isman et al., 2011). گیاهان منبع غنی از مواد شیمیایی دفاعی هستند (Wink et al., 1998) و این مواد ممکن است ویژگی‌های حشره‌کشی، دورکنندگی، جلب‌کنندگی، ضدتغذیه‌ای و تاثیر تنظیم‌کنندگی رشد روی حشرات از خود نشان دهند (Champagne et al., 1998). ترکیبات مورد اشاره در بالا، علاوه بر سمیت روی آفات ممکن است روی دشمنان طبیعی به صورت انتخابی عمل کرده و به طور معمول تاثیر سوء اندکی بر موجودات غیرهدف (پارازیتوئیدها و شکارگرها) و محیط‌زیست داشته باشند (Arnason et al., 1989). قدمت استفاده تجاری از گیاهان به عنوان آفت‌کش به سال ۱۸۵۰ برمی‌گردد، که در بین آن‌ها می‌توان به استفاده از نیکوتین، روتون و پایریتروم اشاره کرد (Cracker and Simon, 2002). امروزه فرآورده‌هایی بر پایه عصاره درخت چریش (نیم) و اسانس‌های میخک، رزماری، نعناع فلفلی، دارچین، لیمو و آویشن به منظور مدیریت آفات بهداشتی، زراعی و گلخانه‌ای ساخته شده و به صورت تجاری وارد بازار مصرف شده است (Isman et al., 2010).

بیشتر کارهای انجام‌شده روی اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی به‌ویژه در ایران، اثر ترکیب خالص و یا حل‌شده در حلال را روی حشرات مختلف مورد بررسی قرار داده و نسبت به فرموله کردن این مواد و تبدیل آن به صورت یک فرآورده تجاری اقدامات محدودی انجام شده است

(Fahim et al., 2012; Jafarbeighi et al., 2012; Yarahmadi et al., 2012; Samarefkehri, et al., 2015; Ail-Catzim et al., 2014). البته در سال‌های اخیر روی فرموله کردن و استفاده تجاری از اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی در دنیا و در کشور ما فعالیت‌هایی صورت گرفته است که در ادامه به روند تولید و پیشرفت آن‌ها اشاره می‌شود. خاصیت فراربودن ماده مؤثره اسانس‌ها و اکسید شدن سریع آن‌ها باعث شده است تا فناوری‌های جدیدی برای بهبود کارایی سمیت اسانس‌ها با حفظ ماهیت‌شان به کار گرفته شوند. یکی از این روش‌ها، استفاده از فرمولاسیون‌های مختلف و تغییراتی است که می‌تواند کیفیت و میزان تاثیر آفت‌کشی این ترکیبات را افزایش دهد. انتخاب نوع فرمولاسیون به عوامل فیزیکی، شیمیایی، خواص بیولوژیکی اسانس، نحوه اثر، چگونگی کاربرد و نوع محصول بستگی دارد. فرموله کردن اسانس‌ها و عصاره‌ها با روش امولسیون به صورت میکرو یا نانوامولسیون، یکی از این روش‌ها محسوب می‌شود (Zare et al., 2011; McClements, 2012; Mirmajidi et al., 2014; Ziaee and Hamzevy, 2013; and Abbasi, 2013). یکی از آفات مهم محصولات کشاورزی، باغی و گلخانه‌ای که در سال‌های اخیر به یک آفت شهری نیز تبدیل شده است، سفیدبالک پنبه *Bemisia tabaci* Gen. می‌باشد. این حشره از آفات مهم و چندین‌خوار بوده و روی طیف وسیعی از محصولات کشاورزی در بسیاری از نقاط جهان به‌ویژه در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری فعالیت دارد. این آفت به‌ویژه در شرایط گلخانه‌ای روی گیاهان زینتی و محصولات گلخانه‌ای در جمعیت‌های خیلی بالا دیده می‌شود (Oliveira et al., 2001). بر اساس تارنمای Arthropod Pesticide Resistance Database تاکنون ۵۹۳ گزارش مقاومت به آفت‌کش‌ها در این گونه گزارش شده و در حال حاضر این آفت به ۵۶ ترکیب مقاوم شده است. با توجه به پتانسیل بالای مقاومت سفیدبالک پنبه به آفت‌کش‌ها، لزوم معرفی ترکیباتی با پتانسیل مقاومت کم‌تر برای کنترل این آفت احساس می‌شود که در این بین، اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی با توجه به داشتن ترکیباتی با

شد. همچنین خاصیت کشندگی و زیرکشندگی این ترکیبات فرموله شده در یک بازه زمانی در مقایسه با کنترل مثبت (صابون گیاهی پالیزین®)، منفی (آب مقطر) و شاهد (بدون هیچ تیماری) بررسی شد. در صورت امیدبخش بودن فرمولاسیون‌های ساخته شده بر اساس آزمون‌های آزمایشگاهی و انجام آزمون‌های تکمیلی بعدی، ماحصل این پژوهش به یک فرآورده کاربردی در مدیریت تلفیقی این آفت تبدیل خواهد شد.

مواد و روش‌ها

پرورش گیاه میزبان و استقرار سفیدبالک پنبه

خیار رقم تجاری سوپر دومینوس PS (محصول کشور ایتالیا) برای کشت انتخاب شد. بوته‌های خیار در گلدان‌های سفالی با قطر دهانه ۱۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر کشت شد و برای کاشت بذور از ماسه، خاک و کود دامی به نسبت برابر استفاده شد. کلنی سفیدبالک پنبه از مزارع پنبه منطقه سفیدشهر کاشان (فاقد سابقه سمپاشی) جمع-آوری و در قفس‌های چوبی (به ابعاد ۱۰۰ × ۷۰ × ۷۰ سانتی‌متر) در شرایط کنترل‌شده اتافک پرورش مرکز تحقیقات گیاهان دارویی باریج (وابسته به شرکت داروسازی باریج‌اسانس) پرورش داده شد. از سفیره‌های سفیدبالک‌ها اسلاید تهیه شد و با استفاده از کلیدهای شناسایی گونه حشره (سفیدبالک پنبه *Bemisia tabaci* (Gennadius)) شناسایی شد (Ghahhari & Hatami, 2001). سپس برای تایید، گونه موردنظر به مرکز تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور ارسال شد. بعد از شناسایی، سفیدبالک‌ها چندین نسل بدون استفاده از هر نوع آفت‌کش پرورش داده شدند.

همسن‌سازی آفت

به منظور ایجاد جمعیتی همسن، حشرات کامل سفیدبالک توسط اسپراتور جمع‌آوری و به قفس‌های حاوی گیاهان تازه منتقل و اجازه داده شد تا تخم‌ریزی کنند. سپس گلدان‌ها، از قفس‌های حاوی بالغین سفیدبالک به قفس‌های عاری از سفیدبالک منتقل شدند و بدین ترتیب جمعیت مناسبی از پوره‌های سن ۲ همسن ایجاد شد. این

شیوه اثر متنوع از اهمیت به‌سزایی در کنترل این آفت برخوردار هستند. همین سازوکار عمل متفاوت و چندگانه (حشره‌کشی، ضدتغذیه‌ای، دورکنندگی، عامل بازدارنده تخم‌گذاری، عامل مخدوش‌کننده تنظیم رشد و فعالیت ضدناقلی) باعث پتانسیل مقاومت کمتر این مواد نسبت به سموم شیمیایی شده است (Isman, 2006). البته علی‌رغم پتانسیل بالای اسانس‌های گیاهی در کنترل آفات، مشکلاتی مانند فراربودن اسانس‌های گیاهی، حلالیت کم در آب و ظرفیت اکسیداسیونی بالای آن‌ها سبب شده است که استفاده کاربردی از آن‌ها با محدودیت‌هایی همراه باشد (Moretti et al., 2002). به طور معمول با توجه به پایداری کم اسانس‌های گیاهی در محیط‌های باز، اغلب ترکیبات و اسانس‌های فرموله شده، در محیط‌های بسته مانند گلخانه‌ها قابل توصیه هستند.

در حال حاضر معرفی ترکیبات کم‌خطر، موثر و با پتانسیل مقاومت کم‌تر برای کنترل این آفت بیش از پیش احساس می‌شود. اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی با منشاء طبیعی در صورت برطرف کردن مشکلات تجاری سازی و فرمولاسیون آن‌ها، می‌توانند در کنترل این آفت در محیط گلخانه موثر باشند. همچنین با توجه به رویکرد سال‌های اخیر جامعه به مصرف مواد غذایی ایمن و حاوی حداقل آفت‌کش سنتزی، نیاز به تولید آفت‌کش‌های زیست‌بنیاد و در عین حال موثر و کم‌خطر برای محیط‌زیست، بیش از پیش وجود دارد.

در این تحقیق با بررسی اثرات کشندگی اسانس‌های رزماری، نعنای فلفلی، اکالیپتوس و عصاره آویش باغی به‌صورت فرموله شده بر پایه میکرو و نانومولسیون، سعی شده است تا کارایی حشره‌کشی و دوام ترکیبات گیاهی با کمک فرمولاسیون‌های مختلف افزایش یابد. پس از ساخت ترکیبات فرموله شده از گیاهان دارویی فوق‌الذکر، با انجام آزمون‌های فیزیکوشیمیایی، خواص فیزیکی و شیمیایی فرمولاسیون‌ها از جمله اندازه ذرات مشخص شد. سپس با کمک آزمون‌های زیست‌سنجی در محیط آزمایشگاه روی مراحل مختلف زندگی این آفت، دوز موثر ترکیب محاسبه

اثبات رسانده بود، انجام شد (Yang *et al.*, 2010; Jafarbeighi *et al.*, 2012; Fahim *et al.*, 2012; Aziziyan *et al.*, 2014; Riazi *et al.*, 2015; Sarraf *et al.*, 2015). ترکیباتی در این فرمولاسیون استفاده شده است که حتی الامکان باعث پایداری بیش تر فراورده در سطح برگ گیاه و به دنبال آن مواجهه ی بیش تر با آفت شده و به اصطلاح ترکیب نهایی را آهسته رهش (Slow Release) نمایند (McClements, 2012). موادی که در ساخت فرمولاسیون به کار گرفته شد، شامل عامل امولسیون کننده (امولسیفایر) توپین ۸۰ (۳-۶ درصد)، عامل چسباننده پلی ونیل پیرولیدون یا PVP (۳-۶ درصد)، حلال هیدروالکلی ۵۵ درصد، ماده موثره (اسانس ها و عصاره های گیاهی ذکر شده) و پایه روغن گیاهی آفتابگردان (۱۰-۲۵ درصد) بود. از بین این اجزاء نوع و درصد عامل چسباننده، حلال و روغن به میزان آهسته رهشی فرمولاسیون نهایی کمک می کند (Zare *et al.*, 2011; McClements, 2012; Mirmajidi and Abbasi, 2013) که با انتخاب نوع مواد فوق، بررسی و محاسبه اثرات شیمیایی آن ها و کم و زیاد کردن این مواد در هنگام فرموله کردن، میکرو و نانومولسیون های مورد نظر با شکل و دوام مناسب ایجاد شد.

همچنین آزمونی با دستگاه Dynamic Light Scattering (DLS) برای اندازه گیری اندازه ذرات و آزمون تعیین پتانسیل زتا به منظور تعیین این مساله که حشره کش گیاهی فرموله شده میکرو یا نانومولسیون است، انجام شد (Zare *et al.*, 2011, Mirmajidi and Abbasi, 2013). برای انجام این آزمون از دستگاه DLS ساخت شرکت Malvern Instruments انگلستان با مشخصات DTS Ver. 4.20 و شماره سریال MAL1001767 موجود در آزمایشگاه دانشکده داروسازی دانشگاه تهران استفاده شد.

آزمون های زیست سنجی

الف- بررسی سمیت ترکیبات گیاهی روی پوره سن دو
آزمون اولیه به روش غوطه ورسازی برگ های حاوی پوره سن دو انجام شد (Horowitz *et al.*, 2004).

کلنی ها در شرایط اتاقک پرورش در دمای 25 ± 2 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 60 ± 10 درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند (Fahim *et al.*, 2012).

جمع آوری گیاهان، استخراج ترکیبات و تجزیه شیمیایی اسانس ها و عصاره

اندام هوایی رزماری *Rosmarinus officinalis* L. در مردادماه از منطقه استان البرز، اندام هوایی نعنای فلفلی *Mentha piperita* L. در تیرماه از دزفول، برگ اکالیپتوس *Eucalyptus globules* L. در مردادماه از جیرفت و برگ و سرشاخه گلدار آویشن باغی *Thymus vulgaris* L. در خردادماه از استان تهران (در سال ۱۳۹۵) شناسایی (Mozafferian, 2013) و جمع آوری شده و در سایه خشک شدند. اسانس های سه گیاه اول با روش تقطیر با آب تهیه شدند؛ به صورتی که تمامی گونه های گیاهی خشک و پودر شده و به نسبت ۱ به ۲ وزنی- وزنی با آب مخلوط شده و به مدت ۴ ساعت در دستگاه کلونجر قرار گرفتند. عصاره آویشن باغی نیز به نسبت ۱ کیلوگرم گیاه خشک و پودر شده به ۴ کیلوگرم حلال (اتانول ۳۵ درصد) و با استفاده از دستگاه پرکولاتور به مدت ۲۴ ساعت استخراج شدند. نسبت عصاره به دست آمده، ۱ به ۲ وزنی- وزنی بود. به منظور تعیین میزان ماده موثره شاخص در اسانس ها از دستگاه آنالیز کروماتوگرافی گازی (GC/FID) ساخت شرکت Varium هلند، مدل CP3800 و به منظور تعیین میزان ماده موثره شاخص در عصاره آویشن باغی از دستگاه آنالیز کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC/UV) ساخت شرکت Azura آلمان موجود در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی باریج استفاده شد (British Pharmacopoeia, 2015).

فرمولاسیون ترکیبات گیاهی

اسانس ها و عصاره گیاهی ذکر شده در واحد فرمولاسیون مرکز تحقیقات گیاهان دارویی باریج به صورت میکرو و نانو فرموله شدند. انتخاب این اسانس ها و عصاره ها بر اساس بررسی های قبلی که روی حشرات و آفات دیگر صورت گرفته و خاصیت آفت کشی این ترکیبات را به

بین بروند) نیز تخمین زده شد (Dehghani *et al.*, 2011; Fahim *et al.*, 2012; Christofoli *et al.*, 2015).

ب- بررسی اثر زیر کشندگی ترکیبات گیاهی

پوره‌های سن دوم با غلظت‌های LC₃₀ مشابه آزمون قبل تیمار شده، سپس نسبت تبدیل پوره سن دو به حشره کامل و میزان تخم گذاری به‌عنوان عامل زیر کشندگی بررسی شد. حشرات کامل تا یک هفته نگهداری و تعداد تخمی که زیر برگ‌ها گذاشته بودند، شمارش شد. سه تیمار آزمون قبلی، به همراه ترکیبات فرموله شده آن‌ها بدون اسانس و عصاره (فقط مواد همراه) به منظور بررسی احتمالی اثر این مواد نیز مورد آزمون قرار گرفتند. کنترل مثبت (صابون گیاهی پالیزین®) به نسبت توصیه شده روی برچسب، کنترل منفی (آب مقطر) و شاهد (بدون هیچ تیماری) نیز در آزمون مقایسه‌ای به کار رفتند. این آزمون‌ها نیز به روش غوطه-ورسازی برگ‌های حاوی پوره سن دو انجام شد. به‌منظور جلوگیری از مفقود شدن احتمالی سفیدبالک‌های خارج‌شده، در ابتدای آزمایش زیر هر یک از گلدان‌ها و قفس‌ها یک کاغذ مقوایی چهارگوش به رنگ تیره قرار گرفت. همچنین روی گلدان‌ها نیز با پارچه توری پوشیده شد و شاخص نسبت تبدیل پوره سن دو به حشره کامل و همچنین میزان تخم گذاری حشرات کامل (به‌عنوان عامل زیر کشندگی) مشخص شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی حداقل با ۳ تکرار انجام شد (Heidari *et al.*, 2005; Hosseini nave *et al.*, 2010; Fahim *et al.*, 2012). تمام آزمون‌های فوق در آزمایشگاه گیاه پزشکی مرکز تحقیقات گیاهان دارویی باریج کاشان در دمای ۲۵±۲ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۱۰±۷۰ درصد و دوره نوری ۸ ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی انجام شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه پروبیت داده‌ها با استفاده از نرم افزار -POLO PC انجام شد. همچنین اطلاعات به‌دست آمده از طریق آزمون تجزیه و تحلیل واریانس ANOVA همراه با مقایسه میانگین‌ها و با استفاده از نرم افزار SPSS Version 22 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

غلظت‌های موثر برای آزمون‌های تخمین کشندگی ۵۰ درصد (LC₅₀)، ۹۰ درصد (LC₉₀) و زمان کشندگی ۵۰ درصد (LT₅₀) برای تیمارهای فرموله شده گیاهی طی آزمون اولیه تعیین شد. هدف از آزمون‌های اولیه به‌دست آوردن غلظت‌هایی از فرمول‌های مذکور است که بتواند تلفاتی در بازه ۲۰ تا ۹۰ درصد ایجاد کرده را مشخص نماید تا با استفاده از آن آزمون، غلظت‌های کشنده ۵۰ درصد (LC₅₀) و ۹۰ درصد (LC₉₀) را به دست آورد (Robertson *et al.*, 2007). در این آزمایش‌ها پوره‌های سن دو که بی‌تحرك بودند و با نزدیک کردن قلم‌موی شتر نازک هیچ حرکتی نشان نمی‌دادند، مرده تلقی شدند (Choie *et al.*, 2003). واحدهای آزمایشی شامل برگ‌های نشاندار روی بوته‌های خیار بود که تعداد پوره‌های سن دو روی آن‌ها شمارش می‌شدند و به همان صورتی که به بوته اصلی اتصال داشتند به آرامی به مدت ۵ ثانیه در ۵۰۰ میلی‌لیتر از ۵ غلظت متفاوت محلول‌های سمی فرو برده شدند. تیمارها به شرح زیر بودند:

۱. تیمار اول T1: امولسیون ترکیب شده از چهار اسانس رزماری (۲ درصد)، نعنای فلفلی (۲ درصد) و اکالیپتوس (۲ درصد) و عصاره آویشن باغی (۲۰ درصد)
۲. تیمار دوم T2: امولسیون بر پایه عصاره آویشن باغی (۲۰ درصد)
۳. تیمار سوم T3: امولسیون ترکیب شده از سه اسانس رزماری (۲ درصد)، نعنای فلفلی (۲ درصد) و اکالیپتوس (۲ درصد).

به منظور رقیق کردن فرمولاسیون‌های مورد نظر و نیز در تیمار کنترل منفی، از آب مقطر استفاده شد. بعد از گذشت ۲۴ ساعت از زمان تیمار تلفات شمارش و سپس LC₃₀، LC₅₀ و LC₉₀ تخمین زده شد. شمارش مرگ و میر پوره‌های سن دوم تیمار شده و شاهد تا ۱۵ روز ادامه یافت. همچنین با تیمار پوره‌های سن دوم با دوزهای پایین‌تر از LC₅₀ (یعنی غلظت LC₃₀)، زمان کشندگی ۵۰ درصد (LT₅₀) (مدت زمانی که طول می‌کشد تا ۵۰ درصد پوره‌های سن دو سفیدبالک پنبه روی برگ‌های تیمار شده از

نتایج

تجزیه شیمیایی اسانس‌ها و عصاره، نوع و میزان

تعیین نوع و میزان ترکیبات شیمیایی عمده در

ترکیبات شیمیایی عمده در آن‌ها را به شرح جدول ۱ نشان

اسانس‌ها و عصاره

داد:

جدول ۱- ترکیبات شیمیایی عمده (% از کل) مشخص شده در اسانس‌های رزماری، نعناع فلفلی و اکالیپتوس به وسیله آزمون

HPLC و عصاره آویشن باغی به وسیله آزمون GCmass

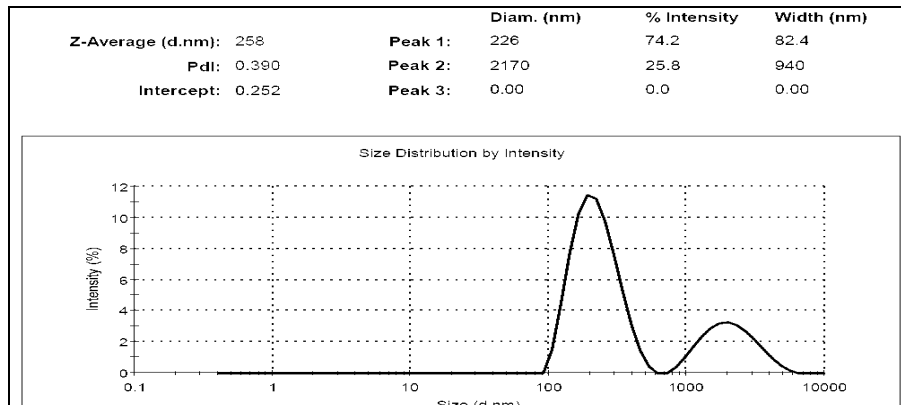
Table 1. Major compounds (% of total) identified in rosemary, peppermint and Eucalyptus essential oils by GCmass and Thyme extract by HPLC

No	Components (Rosemary)	Percentage (Rosemary)	Components (Peppermint)	Percentage (Peppermint)	Components (Eucalyptus)	Percentage (Eucalyptus)	Components (Thyme)	Percentage (Thyme)
1	tricyclene	2.36	Alpha-pinene	0.66	α -pinene	1.61	Caffeic acid	1.4
2	α -pinene	7.22	Sabinene	0.36	Sabinene	0.01	Quinic acid	1.84
3	camphene	4.21	Beta-pinene	0.92	p-Cymene	4.45	p-Coumaric acid	0.96
4	borneol L	4.14	Alpha-terpinene	0.48	1,8-cineole	73.71	Caffeoylquinic acid derivative	3.41
5	2- β -pinene	2.21	Limonene	1.12	α -campholene	0.84	Quercetin-7-o-glucoside	1.72
6	3-octanone	1.44	1,8-Cineole	5.81	(E)-inocarveol	1.13	Ferulic acid	3.66
7	β -myrcene	1.37	Gamma-terpinene	0.83	Verbenol	0.29	Carnosic acid	7.57
8	L-phellandrene	1.64	Cis-sabinene hydrate	0.57	(Z)-sabinene hydrate	1.51	Cinnamic acid	28.54
9	α -terpinene	1.3	Terpinolene	0.16	Munrolol	0.50	Rosmarenic acid	7.32
10	1,8-cineol	32.24	Linalool	0.27	Pinocarvone	0.34	Methyl rosmarenate	6.65
11	gamma-terpinene	1.78	Mentone	22.55	(E)-inocarveol	0.34	Apigenin	8.88
12	caryophyllene Oxid	2.31	Neomenthol	8.83	Terpinen-4-ol	2.53	Naringin	4.14
13	α -terpinolene	2.3	Menthol	34.81	Cryptone	2.54	Luteolin-7-o-rutinoside	7.65
14	filifolone	2.72	Isomenthol	0.96	α -terpineole	0.69	Ferulic acid derivative	5.21
15	linalool L	3.62	Neo iso menthol	0.48	Myrtenal	0.63	-	-
16	chrysathenone	3.22	Pipentone	0.61	(E)-carveol	0.42	-	-
17	camphor	3.73	Neo menthyl acetate	0.55	Carvone	0.23	-	-
18	6,6-dimethyl-2-methylene bicyclo	2.6	Menthyl acetate	10.64	Cuminal	1.72	-	-
19	1,5-dimethyl bicyclo [3.2.1] octan	2.37	Iso menthyl acetate	0.33	Allo-aromadendrene	0.43	-	-
20	bicyclo [3.1.1] hepta-3-en-2-one	3.44	Beta-bourbonene	0.82	Spatulenol	1.11	-	-
21	tricyclo [4.2.1.1(2,5)] decane	2.04	Trance-beta-caryophyllene	2.76	Elemol	1.1	-	-
22	1,6-octadien-3-ol	3.24	(z)-beta-farnesen	0.48	Isospathulenol	0.45	-	-
23	bicyclo [2.2.1] heptan-2-ol	3.70	Germaacrene-d	2.73	Viridifolol	0.10	-	-
Total	-	95.2	-	97.73	-	96.68	-	88.95

تعیین اندازه ذرات ترکیبات فرموله شده

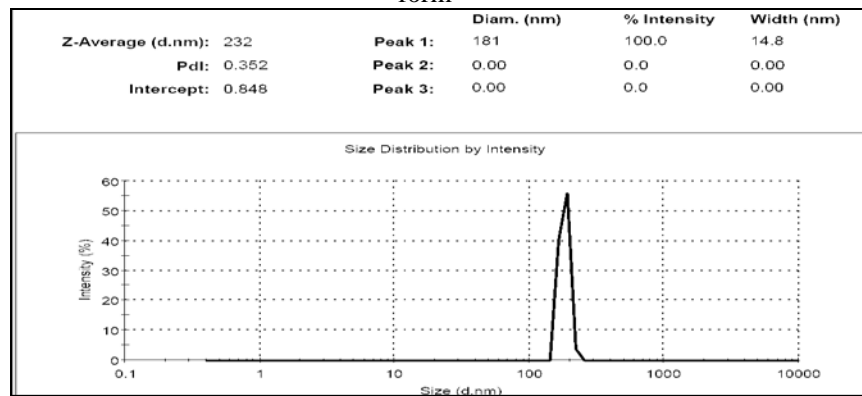
نتایج آزمونی که با دستگاه Dynamic Light Scattering (DLS) برای اندازه‌گیری اندازه ذرات و همچنین آزمون تعیین پتانسیل زتا به منظور تعیین این مساله که حشره‌کش گیاهی فرموله شده میکرو یا نانوامولسیون است، نشان داد که در تیمار T1 دو طیف اندازه وجود دارد که هر دو طیف از محدوده نانو فراتر می‌باشد و تشکیل نانوامولسیون نمی‌دهد (شکل ۱). در تیمار T2 فقط یک

طیف اندازه وجود دارد که این طیف هم از محدود نانو فراتر است و تشکیل نانوامولسیون نخواهد داد (شکل ۲) ولی تیمار T3 دو دسته ذرات نانومتری تشکیل شده است که ذرات کمتر از ۵۰ نانومتر نیز در آن وجود دارد (شکل ۳). بنابراین تیمار T3 تنها تیماری است که تشکیل نانوامولسیون داده است و دو تیمار دیگر تشکیل میکروامولسیون می‌دهند.



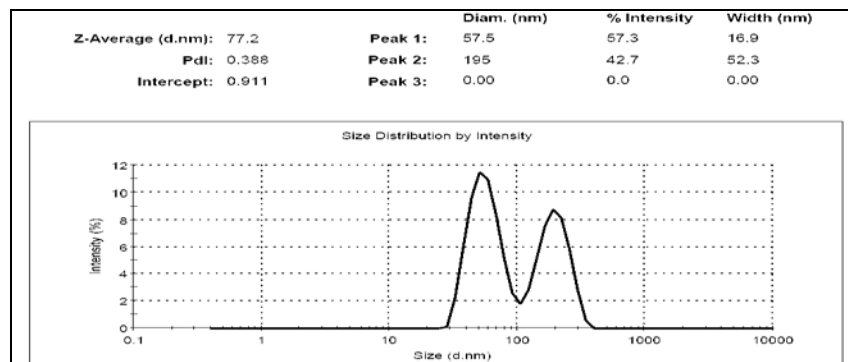
شکل ۱- طیف اندازه ذرات در تیمار T1: دو طیف اندازه در این تیمار وجود دارد که هر دو طیف از محدوده نانو فراتر می‌باشد و تشکیل نانوامولسیون نداده بلکه تشکیل میکروامولسیون می‌دهد

Figure 1. Size spectrum in treatment (T1): There are two size spectrum in this treatment which both of them are beyond nano range and do not form nanoemulsion, but make microemulsion form



شکل ۲- طیف اندازه ذرات در تیمار دوم T2: فقط یک طیف اندازه در این تیمار وجود دارد که این طیف از محدوده نانو فراتر است و تشکیل نانوامولسیون نداده، بلکه تشکیل میکروامولسیون می‌دهد

Figure 2. Size spectrum in treatment (T2): There is only one size spectrum in this treatment which is beyond nano range and doesnot form nanoemulsion but make microemulsion



شکل ۳- طیف اندازه در تیمار T3: در این تیمار دو دسته ذرات نانومتری تشکیل شده است که ذرات کمتر از ۵۰ نانومتری در آن وجود دارد و تشکیل نانوامولسیون می‌دهد

Figure 3. Size spectrum in treatment (T3): There are two spectrums of nanometric particle in this treatment which particles under 50 nanometer can be found and make nanoemulsion form

نتایج آزمایش‌های زیستی

آویشن باغی (۲۰ درصد)، کمترین سمیت را در بین تیمارهای مورد آزمایش داشت (جدول ۲).

در مورد تیمارهای T1، T2 و T3 به ترتیب LT₅₀ در مورد تیمارهای T1، T2 و T3 به ترتیب ۲۴/۶۶، ۷۱/۵۱ و ۱۵/۹۲ ساعت بود که نشان داد که تیمار T3 کمترین مقدار LT₅₀ را داشته، بنابراین در مدت زمان کوتاهتری ۵۰ درصد پوره‌های سن دو سفیدبالک پنبه روی برگ‌های تیمار شده را از بین می‌برد. بعد از آن تیمار T1 و سپس با اختلاف زیادی تیمار T2 با بیشترین زمان لازم برای مرگ و میر را داشت (جدول ۳).

تجزیه واریانس داده‌های نسبت تبدیل پوره سن دو به حشره کامل نشان داد که اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ بین کلیه تیمارها وجود دارد ($p < 0.001$, $F = 32.115$).

در مورد تیمار T1 میزان LC₅₀ و LC₉₀ به ترتیب ۰/۸۲۶۹ و ۳/۴۶۱۷ میلی‌گرم بر لیتر برآورد شد. در تیمار T2 این میزان به ترتیب ۳/۲۱۸۷ و ۱۳/۴۷۴ میلی‌گرم بر لیتر و در تیمار T3 به ترتیب برابر با ۰/۷۴۵۴ و ۳/۱۲۰۸ میلی‌گرم بر لیتر برآورد شد. به دلیل همپوشانی حدود اطمینان ۹۵ درصد، تیمارهای اول و سوم از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت بیشترین سمیت مربوط به تیمار T1 و تیمار T3 می‌باشد که تیمار T1 میکرومولسیونی از سه اسانس رزماری (۲ درصد)، نعناع فلفلی (۲ درصد) و اکالیپتوس (۲ درصد) و عصاره آویشن باغی (۲۰ درصد) و تیمار T3 نانومولسیونی از سه اسانس رزماری (۲ درصد)، نعناع فلفلی (۲ درصد) و اکالیپتوس (۲ درصد) بود و تیمار T2 یعنی میکرومولسیونی بر پایه عصاره

جدول ۲- تخمین سمیت ترکیبات گیاهی فرموله شده روی پوره سن دوم سفیدبالک پنبه با سطح اطمینان ۹۵ درصد
Table 2. Estimation of toxicities of formulated botanical compounds (mg/l) on second instar nymph of *Bemisia tabaci* with confidence level (95%)

Measured parametrs	Dose (mg/l)	Ranges
LC ₅₀ - T1	0.8296	1.1354-0.4934
LC ₅₀ - T2	3.2183	6.8799-1.8897
LC ₅₀ - T3	0.7454	0.4300-1.2322
LC ₉₀ - T1	3.4617	8.7162-2.0212
LC ₉₀ - T2	13.4740	54.1670-6.4172
LC ₉₀ - T3	3.1208	1.7966 7.8923-
LC ₃₀ - T1	0.4602	0.7366-0.2331
LC ₃₀ - T2	1.7915	3.2492-1.0428
LC ₃₀ - T3	0.4149	0.6814-0.2028

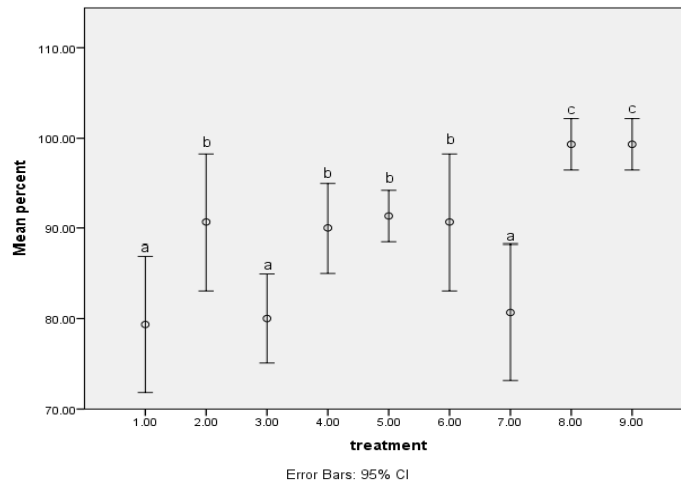
جدول ۳- تخمین LT₅₀ ترکیبات گیاهی فرموله شده روی پوره سن دوم سفیدبالک پنبه بر حسب ساعت

Table 3. Estimation of LT₅₀ (h) on second instar nymph of *Bemisia tabaci*

Treatments	Mean (hours)	Minimum (hours)	Maximum (hours)
LT ₅₀ -T1	24.66	21.15	28.17
LT ₅₀ -T2	71.51	68.50	74.53
LT ₅₀ -T3	15.92	13.53	18.32

مقطر) و شاهد (بدون هیچ تیماری) هر دو با نسبت تبدیل پوره سن دو به حشره کامل ۹۹/۳۳ درصد نیز اختلاف معنی دار داشتند (شکل ۴). بنابراین نتایج نشان داد که تیمار T1 و تیمار T3 توانستند درصد تبدیل پوره سن دو به حشره کامل را کاهش دهند و این تیمارها در غلظت LC₅₀ و LC₃₀ مشابه کنترل مثبت (صابون گیاهی پالیزین®) به نسبت توصیه شده روی بروشور) اثربخشی داشتند. تیمار T2 و سه تیمار از مواد همراه با هم اختلاف معنی داری نداشتند که نشان دهنده عدم اثربخشی مناسب تیمار T2 است؛ هرچند که این تیمارها از کنترل منفی (آب مقطر) و شاهد، اثربخشی بهتری داشته‌اند.

همچنین آزمون دانکن برای مقایسه میانگین‌ها مشخص کرد که تیمار T1 با ۷۹/۳۳ درصد و تیمار T3 با ۸۰/۰۰ درصد و کنترل مثبت (صابون گیاهی پالیزین®) به نسبت توصیه شده روی برچسب) با ۸۰/۶۶ درصد اختلاف معنی داری در سطح ۰/۰۵ درصد با هم نشان ندادند؛ هرچند که این تیمارها با تیمار T2 و سه تیمار از مواد همراه (دارای همه مواد سه تیمار ذکر شده منهای اسانس و عصاره به کار رفته در آنها) اختلاف معنی داری نشان دادند. تیمار T2 و سه تیمار از مواد همراه (یعنی T2, T3 و T1 بدون اسانس و عصاره) با هم اختلاف معنی داری نداشتند (با نسبت تبدیل پوره سن دو به حشره کامل به ترتیب ۹۰/۶۶، ۹۰/۰۰، ۹۱/۳۳، ۹۰/۶۶ درصد). تمام تیمارها با کنترل منفی (آب



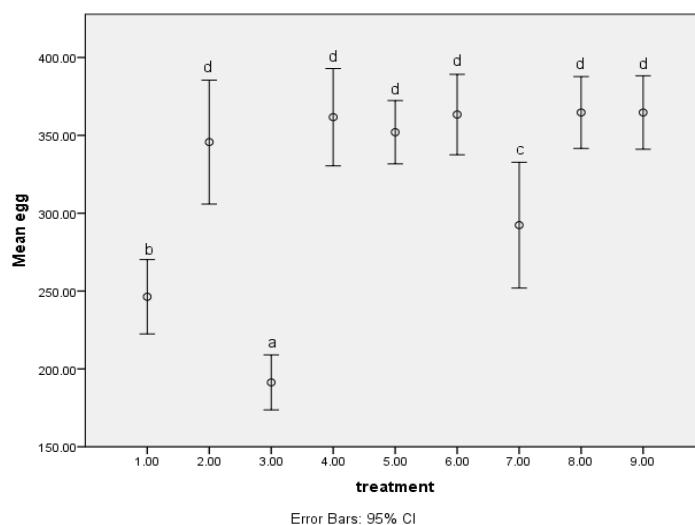
شکل ۴- میانگین درصد تبدیل پوره سن دو به حشره بالغ با فاصله اطمینان ۹۵ درصد آن در تیمارهای ترکیبات فرموله شده. (۱: تیمار T1، ۲: تیمار T2، ۳: تیمار T3، ۴: تیمار T1 بدون اسانس و عصاره، ۵: تیمار T2 بدون اسانس و عصاره، ۶: تیمار T3 بدون اسانس و عصاره، ۷: صابون گیاهی پالیزین® ۸: آب مقطر و ۹: شاهد)

Figure 4. Mean conversion ratio of II nymphal instar of adults calculated as a percentage with 95% confidence interval. (1:T1, 2:T2, 3:T3, 4: T1 without essential oils & extracts, 5: T2 without essential oils & extracts, 6: T3 without essential oils & extracts, 7: palizin® vegetable soap 8: distilled water, 9: control)

T1 با میانگین ۲۴۶/۳۳ تخم و کنترل مثبت (صابون گیاهی پالیزین®) با ۲۹۲/۳۳ تخم میزان تخم گذاری کمتری نسبت به تیمار T2 (یعنی ترکیب فرموله شده از عصاره)، سه تیمار از مواد همراه (بدون اسانس و عصاره)، کنترل منفی (آب مقطر) و شاهد داشتند. تیمارهای T1، T3 و کنترل مثبت با هم و با سایر تیمارها اختلاف معنی داری داشتند، ولی

تجزیه واریانس داده‌های میانگین تعداد تخم سفیدبالک‌هایی که پوره سن دو آن‌ها در معرض تیمارهای ذکر شده قرار گرفته‌اند، به عنوان اثر زیرکشندگی محاسبه شد و اختلاف معنی داری در سطح ۰/۰۵ بین تیمارها نشان داد ($p < 0.001$, $F = 92.116$). همچنین آزمون دانکن مشخص کرد که تیمار T3 با میانگین ۱۹۱/۳۳ تخم، تیمار

تیمارهای T2، ۳ تیمار از مواد همراه (بدون اسانس و عصاره)، کنترل منفی (آب مقطر) و شاهد در سطح احتمال ۰/۰۵ درصد با هم اختلاف معنی داری نداشتند (شکل ۵).



شکل ۵- میانگین تعداد تخم سفیدبالک‌هایی که پوره سن دو آن‌ها در معرض تیمارهای مختلف قرار گرفته‌اند، با فاصله اطمینان ۹۵ درصد (۱: تیمار T1، ۲: تیمار T2، ۳: تیمار T3، ۴: تیمار T1 بدون اسانس و عصاره، ۵: تیمار T2 بدون اسانس و عصاره، ۶: تیمار T3 بدون اسانس و عصاره، ۷: صابون گیاهی پالیزین® ۸: آب مقطر و ۹: شاهد)

Figure 5. Mean number of adults eggs that their nymph II instars has been exposed to different treatments with %95 confidence interval (1:T1, 2:T2, 3:T3, 4: T1 without essential oils & extracts, 5: T2 without essential oils & extracts 6: T3 without essential oils & extracts, 7:palizin® vegetable soap 8:distilled water, 9:control)

اثربخشی بیشتر و رهایش کندتر آن‌ها استفاده شده و این موارد حتی‌الامکان مورد آزمون قرار گیرد (Zare et al., 2011; McClements, 2012; Mirmajidi and Abbasi, 2013).

با توجه به نتایج، تیمارهای T1 و T3 سمیت مناسبی داشتند. همچنین تیمار T3 کمترین مقدار LT_{50} را داشته و بنابراین قادر است در مدت زمان کوتاه‌تری ۵۰ درصد پوره‌های سن دو سفیدبالک پنبه روی برگ‌های تیمار شده را از بین برده و در زمان کوتاه‌تری اثربخشی بیشتری داشته باشد. این مساله در مورد نسبت تبدیل پوره سن دو به حشره کامل که به صورت درصد محاسبه شد، نیز تایید شد، به صورتی که مقدار آن در تیمار T3 برابر با ۸۰/۱۰۰ درصد بود. میانگین تعداد تخم سفیدبالک‌هایی که پوره سن دو آن‌ها در معرض تیمارهای ذکر شده قرار گرفته‌اند، در تیمار T3 با میانگین ۱۹۱/۳۳ تخم کمترین مقدار بود که تمامی

بحث

در سال‌های اخیر فناوری نانو در عرصه‌های مختلف سهم بزرگی از تجارت جهانی را به خود اختصاص داده است. در همین زمینه، تولید نانومولسیون برای ریزپوشینه سازی (انکپسولاسیون) و کنترل رهایش ترکیبات سودمند مانند انواع داروها، رنگ‌ها، اسانس‌ها و ویتامین‌ها یکی از زمینه‌های کاربردی فناوری نانو در صنایع است. در اصل وجود ساختارهای نانومولسیونی، امکان نانوکپسوله کردن ترکیبات فعال از لحاظ زیستی که پایه روغنی دارند را فراهم کرده و موجب به تعویق افتادن تجزیه شیمیایی این ترکیبات می‌شود. نانومولسیون‌ها با افزایش قابلیت حلالیت آفت‌کش‌های غیرمحلول در آب، در فرمولاسیون مواد شیمیای کشاورزی نیز کاربرد دارند. در این تحقیق هم از این خواص در فرمولاسیون ترکیبات استفاده شده و به‌ویژه سعی شد تا با ساخت ترکیبات به شکل نانومولسیون از

که تیمار T3 که یک نانومولسیون گیاهی است، می‌تواند اثربخشی مشابه روغن‌های مورد استفاده در کنترل این آفت را داشته باشد، که باید این موضوع در بررسی‌های بعدی مورد آزمون قرار گیرد.

میزان LC₅₀ و LC₉₀ تیمار T2 که میکرومولسیون ساخته شده از عصاره آویشن باغی به‌تنهایی بود، بسیار زیاد بوده و در آزمون‌های بعدی نیز خاصیت کشندگی و زیرکشندگی این تیمار در مقایسه با کنترل منفی (آب مقطر) و شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت که اثربخشی کم این تیمار را نشان می‌دهد. به‌طور کلی اثربخشی میکرومولسیون عصاره آویشن باغی علی‌رغم این که درصد بالایی در فرمولاسیون داشت (۲۰ درصد)، از اثربخشی ترکیبات دارای اسانس که در مجموع ۶ درصد فرمول را تشکیل می‌دادند، بسیار کمتر بود. احتمال دارد علت این امر، اثر تدخینی اسانس‌ها یا خاصیت روغنی آن‌ها روی سفیدبالک پنبه باشد که در مورد عصاره آویشن باغی این دو سازوکار وجود نداشته است. البته این فرض احتیاج به بررسی‌های بیشتر و مقایسه اثر اسانس آویشن باغی با عصاره آن در فرمولاسیون‌های مختلف دارد.

نتایج در مورد نسبت تبدیل پوره سن دو به حشره بالغ مشخص کرد که تیمار T1، تیمار T3 و کنترل مثبت (صابون گیاهی پالیزین®) کمترین میزان را نشان دادند؛ هرچند که این میزان مقدار بالایی (حدود ۸۰ درصد) بود. یعنی فرمولاسیون حاوی اسانس و عصاره که به صورت میکرو و نانومولسیون فرموله شده بودند، علاوه بر اثرگذاری روی پوره سن دو، مراحل بعدی زندگی آفت را نیز مورد تاثیر قرار داده و باعث کاهش ظهور حشره کامل و میزان تخم حشرات ماده (به عنوان عامل زیرکشندگی) شده است. نتایج نشان داد که تیمار T3 توانسته است میانگین تعداد تخم سفیدبالک‌هایی که پوره سن دو آن‌ها در معرض این تیمار قرار گرفته‌اند را کاهش دهد که در مقایسه با بقیه تیمارها اثربخشی بالایی را نشان می‌دهد. بعد از آن تیمار T1 قرار دارد و این دو تیمار در غلظت LC₅₀ و LC₃₀ از کنترل مثبت (صابون گیاهی پالیزین®) اثربخشی داشته‌اند. تیمار

این موارد نشان می‌دهد که نانومولسیون کردن ترکیبات اثربخشی آن را بیشتر نموده و باعث شده در مقایسه با سایر فرمولاسیون‌ها به‌ویژه فرمولاسیون T1 که دارای همان میزان اسانس به‌علاوه عصاره آویشن باغی است، موثرتر عمل کند. این مطلب با پژوهش قبلی که توسط ضیایی و همکاران (۱۳۹۳) انجام شد، همخوانی داشت که نتایج پژوهش اخیر نشان داد که کپسوله کردن اسانس باعث افزایش بیش از ۶ برابری سمیت نانوژل بارگذاری شده در مقایسه با اسانس خالص می‌شود. نگهبان و همکاران (۱۳۹۲) و (۱۳۹۵) نیز کارایی اسانس نانوکپسوله شده گیاه درمنه *Artemisia sieberi* B. را روی شاخص‌های تغذیه شب‌پره پشته‌الماسی *Plutella xylostella* L. و اسانس نانوکپسوله شده گیاه زیره سبز *Cuminum cyminum* L. را در مدیریت کنترل بید کلم بررسی کرده و افزایش سمیت و دوام این فرمولاسیون‌ها را در مقایسه با فرم غیرکپسوله ثابت کردند (Nagahban et al., 2013). لازم به ذکر است که تحقیق ضیایی و همکاران (۱۳۹۳) با استفاده از نانوژل کیتوزان-میرستیک اسید و پژوهش نگهبان و همکاران (۱۳۹۲ و ۱۳۹۵) با استفاده از نانوکپسول اوره-فرمالدهید، با این تحقیق در نوع اسانس، شکل فرمولاسیون، نوع آفت و روش کاربرد متفاوت می‌باشند.

کمترین میزان LC₅₀ (بیشترین میزان سمیت) برابر با ۰/۷۴۵۴ میلی‌گرم بر لیتر یعنی تقریباً معادل ۷۴۵/۴ پی‌پی‌ام و مربوط به تیمار T3 بود که این میزان در مقایسه با مطالعه مشابهی که حسینی‌نیا و همکاران انجام داده و در آن LC₅₀ بوپروفزین مخلوط با روغن‌های چریش، سیتوت® و ولک® برای پوره‌های سفیدبالک گلخانه‌ای را به ترتیب ۲۱۷/۲۶، ۱۷۷/۳۲ و ۵۵۹/۵۶ پی‌پی‌ام تعیین کرده بودند، بیشتر بود؛ هرچند که به میزان سمیت روغن ولک نزدیک بود (حسینی‌نیا و همکاران، ۱۳۹۵). میزان LC₅₀ تیمار T3 با LC₅₀ روغن سیتوت در مطالعه دیگری که توسط اشتري و همکاران روی مرحله نابالغ (پوره و شفیره) سفیدبالک پنبه انجام و ۶۸۴/۷۰ پی‌پی‌ام تعیین شد، نزدیک بود (Ashtari et al., 2011). بنابراین می‌توان این فرض را مطرح کرد

موجود در اسانس‌ها و عصاره‌ها روی ساختار این نانوامولسیون‌ها تاثیر داشته باشند که باید مورد بررسی قرار گیرند.

به طور کلی نتایج نشان داد که تیمار T3 و پس از آن تیمار T1 با اثربخشی بیشتر نسبت به صابون گیاهی (کنترل مثبت)، به عنوان ترکیبات امیدبخش شناخته شده و با انجام آزمون‌های تکمیلی (در گلخانه و مزرعه) می‌توانند به‌عنوان یک فراورده کاربردی در مدیریت تلفیقی این آفت مورد استفاده قرار گیرند.

سپاسگزاری

به این وسیله از شرکت داروسازی باریج اسانس و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی باریج به دلیل پشتیبانی مالی و امکاناتی این تحقیق قدردانی می‌شود.

T2 و سه تیمار از مواد همراه، کنترل منفی (آب مقطر) و شاهد با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند که نشان‌دهنده عدم اثربخشی تیمار دوم T2 است.

به منظور اطمینان از صحت نتایج به دست آمده و این که اثربخشی تنها مربوط به مواد گیاهی است و نه مواد همراه که به منظور فرموله کردن آن‌ها استفاده می‌شود، سه تیمار موردآزمون (T1, T2, T3) به همراه ترکیبات فرموله‌شده آن‌ها بدون اسانس و عصاره جهت بررسی احتمالی اثر این مواد، کنترل منفی (آب مقطر) و شاهد (بدون هیچ تیماری) در آزمون مقایسه‌ای همراه با تیمارهای اصلی به کار رفتند که نتایج نشان داد که تیمارهای مربوط به مواد همراه اختلاف معنی‌داری با تیمارهای اصلی داشتند و تمام تیمارها نیز با کنترل منفی و شاهد اختلاف معنی‌دار داشتند. لازم به ذکر است امکان نانوامولسیون و میکرومولسیون کردن اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهان دیگر با روش انجام‌شده در این تحقیق نیز وجود دارد؛ البته ممکن است ترکیبات

References

- Ail-Catzim, C. E. García-López, A. Troncoso-Rojas, R. González-Rodríguez, R. E. and Sánchez-Segura, Y. 2015. Insecticidal and repellent effect of extracts of *Pluchea sericea* (Nutt.) on adults of *Bemisia tabaci* (Genn.). **Revista Chapingo Serie Horticultura XXI(1)**: 33-41.
- Arnason, J. T., Philogene, B. J. R. and Morand, P. 1989. Insecticides of Plant Origin. **American Chemical Society Symposium Series** Washington DC, EUA.
- Arthropod Pesticide Resistance Database 2016. Available at: <http://www.pesticideresistance.org/>. Retrieved 2016 June 10.
- Ashtari S., Poormirza, A. and safaralizadeh, M. 2011. Investigation of susceptibility to various stages of life *Bemisia tabaci* agaist pyriproxyfen and sytövet oil. **Journal of Entomology Research** 3 (4): 267-276. (In Farsi)
- Azizyan, N., Sarraf Moayeri, H. and Bolandnazar, A. 2014. Effect of contact formulations prepared of plant extracts and essential oils on two-spotted spider mites. **Journal of plant protection (Agricultural Sciences and Technology)** 28(3): 393-399. (In Farsi)
- British Pharmacopoeia. 2015. Volume IV. London: The Stationery Office.
- Champagne, D. E., O. Koul, Isman, M. B. Scudder, G. E., and G. H. N. Towers. 1992. Biological activity of limonoids from the rutales. **Phytochemistry** 31: 377-394.
- Christofoli, M. Candida Costa, E. C. and Bicalho, K. U. 2015. Insecticidal effect of nanoencapsulated essential oils from *Zanthoxylum rhoifolium* (Rutaceae) in *Bemisia tabaci* populations. **Industrial Crops and Products** 70: 301-308.
- Dehghani, M. and Ahmadi, K. 2011. The effect of botanical extracts on duration of immature and puparium *Trialeurodes vaporariorum*. **Herbal Medicines** 2 (4): 239-244 (In Farsi).
- Fahim, M. Safaralizadeh, M. and Safavi, S. A. 2012. Evaluation of the sensitivity of the egg, nymph and adult greenhouse whitefly against of essential oils of mint and cumin in laboratory conditions. **Journal of Agricultural acknowledge and sustainable production** 22(3): 27-35. (In Farsi)
- Ghahhari, H. and Hatami, B. 2001. Faunistic and taxonomic surveys of whiteflies (Homoptera: Aleyrodidae) in Isfahan Province. **Applied Entomology and Phytopathology** 69(1): 141-170.

- Heidari, A., Moharramipour, S., Pourmirza, A. and Talebi, A.** 2005. The effects of proxyfan, buprofzin and Fenpiropatrin on indices of population growth on *Trialeurodes vaporariorum* Westwood (Hom: Aleyrodidae). **Journal of Agricultural Science** 36(2): 95-101. (In Farsi)
- Hosseini nave, V., Poormirza, F. and Safaralizadeh, A. M.** 2010. Effects of lethal insecticide pirimicarb, oil and mixed Sytovet of the *Trialeurodes vaporariorum* and *Myzus persica* under greenhouse conditions. **Iranian Journal of Plant Protection** 1: 353-361. (In Farsi)
- Horowitz, A. R. Kontsedalov, S. and Ishaaya, I.** 2004. Dynamics of resistance to the neonicotinoids actamiprid and thiamethoxam in *Bemisia tabaci*. **Insecticides Resistance and Resistance Management** 97(6): 2051-2056.
- Isman, M. B.** 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world, **Annual Review of Entomology** 51: 45-66.
- Isman, M. B.** 2010. Botanical insecticides, deterrents, repellents and oils, in Singh, B. P. (ed.) in: Industrial crops and uses. **CAP International**. pp. 433-445.
- Isman, M. B., Miresmaili, S. and Machial, C.** 2011. Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. **Phytochemistry Reviews** 10:197-204.
- Jafarbeigi, F., Samih, M., Zarabi, M. and Esmaeily, S.** 2012. The effect of some herbal extracts and pesticides on the biological parameters of *Bemisia tabaci* pertaining to tomato grown under controlled conditions. **Journal of plant protection research** 52(4): 375-380.
- McClements D. J.** 1999. Foods Emulsions: Principles, Practice, and Techniques. Florida: CRC Press LLC.
- McClements D. J.** 2012. Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities. **Soft Matter** 8: 1719-1729.
- Moretti, M. D. L., Sanna-Passino, G., Demontis, S. and Bazzoni, E.** 2002. Essential oil formulations useful as a new tool for insect pest control. **The American Association of Pharmaceutical Scientists Tech (AAPS Pharm SciTech)** 3 (2): 64-74.
- Mirmajidi, A. and Abbasi, S.** 2013. Nanoemulsions; introduction, production, Application. **Nanotechnology monthly** 8: 45-49.
- Mozafferian, V.** 2013. Identification of Medicinal and Aromatic Plants of Iran. Farhange Moaser Press. pp:1350.
- Negahban, M., Moharramipour, S., Zandi, M. and Hashemi, S. A.** 2013. Efficiency of nanoencapsulated essential oil of *Artemisia sieberi* Besser on nutritional indices of *Plutella xylostella*. **Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research** 29(3): 692-708.
- Negahban, M., Moharramipour, S., Zandi, M. and Hashemi, S. A.** 2016. The application of nano-encapsulated pesticide of cumin against cabbage moth control management. Proceedings of the 22th Iranian Plant Protection Congress. Tehran University, Karaj 832 p.
- Oliveira, M. R. V., Henneberryb, T. J. and Andersonc, P.** 2001. History, current status, and collaborative research projects for *Bemisia tabaci*. **Crop Protection** 20: 709-723.
- Riazi M., Khajeali J., Poorjavad, N. and Bolandnazar, A.** 2015. The mortality and repellency effect of a formulation of spearmint essential oil on the cotton-melon aphid under greenhouse conditions. **Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture** 6 (24): 169-179.
- Samarefkhri, M., Samie, M., Sahoozehi, B., Imani, S. and Zarrabi, M.** 2014. The effect of *F. parviflora* and Teucrium extract and pymetrozin on mortality and changes esterase enzyme *Bemisia tabaci* on tomato varieties resistant and susceptible. **Iranian Plant Protection Science** 45(2): 357-369. (In Farsi)
- Sarraf Moayyeri H., Pirayeshfar, F. and Bolandnazar, A.** 2015. The effect of acaricidal of formulated extracts and essential oils of *Melia azadirachta* on two-spotted spider mites. **Bimonthly Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research of Iran** 31(1): 102-114. (In Farsi)
- Wink, M., Schmeller, T. and Latz-Bruning, B.** 1998. Modes of action of allelochemical alkaloids: interaction with neuroreceptors, DNA and other molecular targets. **Journal of Chemical Ecology** 24(11): 1881-1937.

- Yang, N. W., Li, A. L., Wan, F. H., Liu, W. X. and Johnson, D.** 2010. Effects of on essential oils on immature and adult sweet potato whitefly, *Bemisia tabaci* biotype B. **Crop protection** 29: 1200-1207.
- Zare, Z., Divsalar, A. and Nabyoni, M.** 2011. A review of Nanoemulsions and medical applications. **Nanotechnology Monthly** 9: 30-33. (In Farsi)
- Ziaee, M. and Hamzevy, F.** 2014. Nanoparticles applications in the pest prevention and control. **Nanotechnology Monthly** 13(10): 18-23 (In Persian).

Effect of some micro and nanoemulsified essential oils and plant extract on sweet potato whitefly, *Bemisia tabaci* (Gennadius), under laboratory condition

A. Bolandnazar^{1,2*}, M. Ghadamyari³, M. Memarzadeh² and J. Jalali sandi³

1. Department of plant protection, University Campus, University of Guilan, Rasht. Iran, 2. Barij Medicinal Plants Research Centre, Kashan, Iran, 3. Department of plant protection, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht. Iran

(Received: May 31, 2017- Accepted: November 15, 2017)

Abstract

One of the most important pests of agricultural crops is sweet potato whitefly, *Bemisia tabaci*. Although some essential oils and plant extracts have shown suitable insecticidal properties against this pest, because of considering the high volatility and instability of essential oils, application of these substances for pests control is not practically and commercially possible. In this study, essential oils of *Rosmarinus officinalis*, *Mentha piperita* and *Eucalyptus globules* and extract of *Thymus vulgaris*, formulated based on micro and nano-emulsion and their insecticidal efficiency and stability was tested against *B. tabaci* in laboratory condition. Bioassay was carried out by leaf dip method on second instar nymphs and LC₅₀, LC₉₀, and LT₅₀ values were determined. Also, alive second instar nymphs to alive adults conversion ratio and fecundity in treated insect were determined as sublethal effects and compared with Palizin[®] vegetable soap, distilled water and control (without treatment). The results showed that nano-emulsion treatment containing all tested essential oils was the most efficacious with LC₅₀=0.7454 mg/l, LC₉₀=3.1208 mg/l, and LT₅₀=15.92 h. Also, alive second instar nymphs conversion ratio to alive adults in this treatment was 80% and the mean number of eggs was 191.33 that was most efficacious. Afterwards, microemulsion treatment containing essential oils and extract had a acceptable effect. These two treatments were known as promising compounds in integrated management of this pest and further testing is required for commercialization of these compounds.

Key words: Botanical insecticide, sweet potato whitefly, toxicity, bioassay

*Corresponding author: Bolandnazar@yahoo.com