Journal of Entomological Society of Iran
https://jesi.areeo.ac.ir
Entomological Society of Iran
2024, 44 (1), 25–41
Research Article
https://doi.org.10.61186/jesi.44.1.3
pISSN: 0259-9996
eISSN: 2783-3968
OPEN ACCESS

اثرات کشندگی و زیرکشندگی اسانس نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) و نانوفرمولاسیون آن بر فراسنجه‌های زیستی و رشد جمعیتی سفیدبالک گلخانه، *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood)، در شرایط آزمایشگاهی

محمد شریفیان[1]، فریبا مهرخو[1] و مریم نگهبان[2]

۱- گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

m.sharifian13@yahoo.com https://orcid.org/0009-0002-6044-9881
f.mehrkhou@urmia.ac.ir https://orcid.org/0000-0023-4220-8396

۲- موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، بخش تحقیقات آفت کش‌ها، تهران، ایران

m.negahban2009@gmail.com https://orcid.org/0000-0002-6602-9936

چکیده: سفیدبالک گلخانه یکی از مهمترین آفات مخرب گلخانه‌ای در سرتاسر جهان است. در این پژوهش، اثرات کشندگی و زیرکشندگی اسانس گیاه نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) و نانوفرمولاسیون آن بر سفیدبالک گلخانه با تاکید بر فراسنجه‌های زیستی و رشد جمعیتی (Westwood) *Trialeurodes vaporariorum* مورد مطالعه قرار گرفت. اسانس‌گیری از گیاه مورد نظر با روش تقطیر بخار به‌وسیله دستگاه کلونجر انجام شد و اجزای شیمیایی آنها توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی–طیف‌سنج جرمی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که مونوترپنوئیدهای کارون (Carvone) (۵۷/۱۳٪) و لیمونن (Limonen) (۲۶/۹۰٪)، بیشترین درصد ترکیبات استخراج شده اسانس نعناع فلفلی بودند. همچنین شناسایی نانوفرمولاسیون سنتزشده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)، روبشی (SEM) و توزیع اندازه پراکندگی ذرات (DLS) انجام گرفت. نتایج بیانگر آن بود که شکل نانوفرمولاسیون‌ها، کروی و اندازه متوسط ذرات ۱۷۹/۷۴ نانومتر بود. روش زیست سنجی مورد استفاده در این پژوهش، غوطه‌وری برگ بود. نتایج حاصل از زیست سنجی نشان داد که نانوفرمولاسیون نعناع فلفلی (۳۳۷۵/۴۱۱ پی‌پی‌ام) سمی‌تر از فرم خالص اسانس (۴۵۳۶/۱۱۸ پی‌پی‌ام) آن، برای حشرات کامل سفیدبالک بود. داده‌های حاصل از جدول زندگی، بر اساس تئوری جدول زندگی دو جنسی سن– مرحله رشدی تجزیه شدند. غلظت زیرکشنده (LC_{25}) نانوفرمولاسیون اسانس *M. piperita* فراسنجه‌های جدول زندگی را با تاخیر در مرحله رشد نموی، کاهش طول عمر حشرات ماده و کاهش میزان باروری بیشتر از فرم خالص اسانس تحت تاثیر قرار داد. همچنین میزان فراسنجه‌های رشدجمعیتی نظیر نرخ ذاتی و متناهی افزایش جمعیت در افراد تیمارشده با نانوفرمولاسیون به ترتیب (۰/۰۰۶±۰/۰۷۶ ماده/ماده/ روز)، و (۰/۰۰۷±۱/۰۷۹۰ بر روز) بوده، و کمتر از افرادی بود که تحت تاثیر اسانس خالص (۰/۰۰۶±۰/۰۸۴)، (۰/۰۰۶±۱/۰۸۷) قرار گرفته بودند. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که نانوفرمولاسیون دارای اثرات کشندگی و زیرکشندگی بیشتری بر سفیدبالک گلخانه داشته و می تواند در مدیریت تلفیقی این آفت مدنظر قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: زیست سنجی، سم شناسی، جمعیت نگاری، حشره‌کش‌های گیاهی، فرمولاسیون

تاریخچه مقاله
دریافت: ۱۴۰۲/۰۷/۱۹
پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۱۸
دبیر تخصصی: معصومه ضیائی

Citation: Sharifiyan, M., Mehrkhou, F. & Negahban, M. (2024) Lethal and sublethal effects of *Mentha piperita* L. and its nanoeformulation form on the biological and population growth parameters of *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) under laboratory conditions. *J. Entomol. Soc. Iran*, 44 (1), 25–41.

مقدمه

نیاز بیشتر به مواد غذایی با افزایش جمعیت، لزوم مبارزه با عوامل کاهنده، بازدارنده و مخرب محصولات کشاورزی، دامی، صنعتی و بهداشتی از جمله آفات را به خوبی آشکار می‌کند (Rajendran & Sriranjini, 2008؛ Oftadeh *et al.*, 2020). سفیدبالک گلخانه *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) یکی از مهم‌ترین آفت محصولات جالیزی، زینتی و صیفی‌جات در سرتاسر کشور است (Capinera, 2008). این گونه از جمله آفات پلی‌فاژ بوده که در صورت مناسب بودن شرایط به سرعت رشد کرده و با زاد ولد، جمعیت خود را زیاد می‌کند و با مکیدن شیره گیاهی، انتقال انواع ویروس‌های بیماریزای گیاهی، تولید عسلک و در نهایت ایجاد محیط مناسب برای رشد قارچ‌های فوماژین خسارت زیادی را به محصولات کشاورزی وارد می‌کند (Pappas *et al.*, 2013). در حشرات چندنسلی از جمله سفیدبالک‌ها، تعدد و فراوانی نسل، توان تولیدمثلی بالا و کاربرد بیش از حد حشره‌کش‌ها نقش مهمتری را در ایجاد مقاومت آنها به آفت‌کش‌ها بازی

Corresponding author: Fariba Mehrkhou (E-mail: f.mehrkhou@urmia.ac.ir)
© 2024 by Author(s), Published by the Entomological Society of Iran
This Work is Licensed under Creative Commons Attribution-Non Commercial 4.0 International Public License.

می‌کنند (Castle *et al.*, 2010). جهت کاهش عوارض ناشی از حشره‌کش‌ها و به تعویق انداختن مقاومت حشرات به حشره‌کش‌ها، یافتن ترکیبات جایگزین، امروزه کاربرد زیادی در کنترل آفات گلخانه‌ای از جمله سفیدبالک گلخانه‌ای دارد (Bi & Toscano, 2007). استفاده از ترکیبات گیاهی سابقه طولانی در حفاظت از گیاهان در برابر آفات دارد. تأثیر این ترکیبات به‌صورت کشندگی و زیرکشندگی با اختلال در فعالیت آنزیم‌های گوارشی، آنزیم‌های سم‌زدا، توقف تغذیه‌ای و تولید مثل بروز می‌کند (Heydarzade *et al.*, 2019). برای رفع مشکلات مزبور، استفاده آگاهانه و هوشمندانه از حشره‌کش‌هایی با منشا گیاهی بیش از پیش در مدیریت این آفت نمایان می‌شود. از طرف دیگر به دلیل مصرف تازه‌خوری اغلب محصولات گلخانه‌ای، رعایت دوره کارنس برای حشره‌کش‌های مورد استفاده در گلخانه‌ها نیز باید مد نظر قرارگیرد (Reshadat-Salvanagh, 2021).

امروزه در سرتاسر جهان تمایل برای پیدا کردن گیاهان جدیدی که دارای منابع غنی از آفت‌کش‌های زیستی هستند، افزایش یافته است. این اقدام گامی مؤثر در جهت حفظ محیط‌زیست و سلامت آن است. گیاهان در طی تکامل و تطابق با محیط‌زیست روش‌های دفاع بیوشیمیایی بسیار پیچیده‌ای را به‌دست آورده اند که موجب فراهم شدن یک منبع غنی از ترکیبات فعال زیستی شده است. با استفاده از روش‌های مناسب می‌توان از این منابع به‌عنوان حشره‌کش‌های نوین استفاده کرد (Mareggiani *et al.*, 2000؛ Oftadeh *et al.*, 2021). طی سال‌های گذشته بررسی‌های متعددی در مورد پتانسیل استفاده از حشره‌کش‌های گیاهی در کنترل گونه‌های مختلف آفات صورت گرفته است. پژوهش‌های اخیر خاصیت ضدتغذیه‌ای، لاروکشی، کاهش بقای لارو و شفیره، تاخیر در رشد و نمو و ظهور افراد بالغ، تأثیر دورکنندگی تخم‌ریزی و بیوشیمیایی این ترکیبات را ثابت کرده است (Shekari *et al.*, ؛ Zamani *et al.*, 2010؛ Bolandnazar *et al.*, 2020؛ Tripathi *et al.*, 2000؛ 2008). لذا بررسی جایگاه و نقش گیاهان به ویژه گیاهان دارویی بومی ایران در کنترل آفات می‌تواند گامی مؤثر در کاهش مصرف آفت کش‌های شیمیایی و مدیریت صحیح آفات باشد. نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) از خانواده نعناعیان (Lamiaceae) بومی مناطق مدیترانه‌ای است و در بسیاری نقاط برای مصارف غذایی، دارویی، عطرسازی و درمانی کشت می‌شود (McKay & Blumberg, 2006). ترکیبات موجود در این گیاه دارای خاصیت آنتی اکسیدانی، قارچ‌کشی، کنه‌کشی و حشره‌کشی می‌باشند که می‌توانند جایگزین مناسبی برای آفت‌کش‌های شیمیایی در کنترل بسیاری از آفات باشند (Kumar *et al.*, 2011؛ Rajendran & Sriranjini, 2008؛ Pavela, 2005).

جهت ارزیابی اثرات زیستی حشره‌کش‌ها روی آفات، علاوه بر اثرات کشندگی و تعیین تلفات در کوتاه مدت، می‌توان به اثرات زیرکشندگی آن‌ها در دراز مدت با مطالعه فراسنجه‌های جدول زندگی و رشد جمعیتی با استفاده از تجزیه و تحلیل جداول زیستی یا سم‌شناسی جمعیت‌نگاری دست یافت (Ebne abbasi *et al.*, 2023؛ Mahmoodi *et al.*, 2020). با دستیابی به اثرات زیرکشنده حشره‌کش‌ها، توانایی اجرای برنامه‌های موثرتر و سازگار با محیط زیست در برنامه‌های مدیریت آفات مقدور خواهد بود (Desneux *et al.*, 2007). لذا مطالعات سم‌شناسی جمعیت‌نگاری در برآورد اثرات زیرکشنده حشره‌کش روی رشد جمعیت آفت هدف بسیار مهم می‌باشد (Lashkari *et al.*, 2007). تعدادی از محققان، اثرات کشندگی نعناع فلفلی را بر حشرات کامل سفیدبالک گلخانه (Fahim *et al.*, 2012)، حشرات کامل شپشه‌آرد و شپشه برنج (Rajkumar *et al.*, 2019؛ Heydarzadeh *et al.*, 2019) و شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی (*Tuta absoluta* Meyrick) (Lo Pinto, 2020) مورد مطالعه قرار دادند. به‌عنوان مثال در بررسی تاثیر کشندگی اسانس سرو *Cupressus sempervirens* L.، اکالیپتوس *Eucalyptus globukus* Labill و نعناع فلفلی *M. piperita* بر حشره بالغ شب‌پره مینوز گوجه فرنگی میزان LD_{50} آنها به ترتیب۱/۳۱، ۱/۴۵ و ۳/۹۸ میکرولیتر بر میلی‌لیتر هوا در سمیت تدخینی گزارش شد (Lo Pinto, 2020). همچنین سمیت تدخینی سه اسانس نعناع، زیره سبز و لیمو ترش و حشره‌کش اوبرون برحشرات بالغ سفید بالک توسط Fahim *et al.* (2012) مطالعه شده به طوری که میزان LC_{50} حاصل از آن‌ها به‌ترتیب ۰/۰۰۲، ۰/۰۰۴، ۰/۰۱ و ۰/۰۲میکرولیتر بر میلی‌لیتر هوا تعیین گردید.

اسانس‌ها دارای فراریت بالا، حلالیت و دوام کم هستند لذا محققین با فرموله کردن آنها تلاش می‌کنند کارایی آنها را افزایش دهند (Sogan *et al.*, 2023؛ Anjali *et al.*, 2012؛ Oftadeh *et al.*, 2021). تکنولوژی نانو در این زمینه کمک فراوانی در بهبود مصرف آفت‌کش‌ها ایجاد کرده است که سبب کاهش میزان مصرف آفت‌کش‌ها، افزایش کارایی، سازگاری بیشتر با محیط زیست، بهبود کیفیت و کاهش خطرات محیطی این ترکیبات شده است (Guleria *et al.*, 2022؛ Oliveira *et al.*, 2019). کارایی کمتر اسانس‌های گیاهی نسبت به آفت‌کش‌های شیمیایی، هزینه‌های بالای بررسی‌های محیطی و مراحل ثبت آن‌ها از جمله عوامل محدودکننده در تولید تجاری آن‌ها در گذشته بوده است (Isman *et al.*, 2010). امروزه گام‌های موثری در تولید فرمولاسیون‌های تجاری اسانس‌های گیاهی در اغلب کشورهای جهان صورت گرفته و موارد متعددی از اسانس‌های گیاهی تجاری‌سازی شده علیه آفات مختلف زراعی، باغی و گلخانه‌ای توسط شرکت‌های مختلف تولید شده‌اند. به عنوان مثال فرمولاسیون گرد و آئروسل حشره‌کش‌های گیاهی EcoPCO^{R} و Bioganic^{TM} بر پایه ترکیبات اصلی اسانس‌های ریحان، آویشن باغی، میخک و بادام زمینی (تیمول، اوجنول، آلفا–ترپینول، ۲–فنتیل پروپیونات و بنزیل الکل) برای کنترل مورچه، سوسری و مگس استفاده می‌شوند (Koul *et al.*, 2008). شته‌کش–کنه‌کش EcoTrol^{TM} بر پایه ترکیبات اسانس رزماری علیه محصولات باغی توصیه شده است. فرمولاسیون تجاری اسانس نعناع بر پایه منتول (Herbal Aphid Central^{TM}) نیز برای کنترل شته‌ها بکار گرفته می‌شود (Cloyd *et al.*, 2009).

بنابر آنچه گفته شد این مطالعه با هدف استخراج، شناسایی ترکیبات اسانس نعناع، تهیه نانوفرمولاسیون و بررسی ویژگی‌های این فرمولاسیون صورت گرفت. سپس، ارزیابی اثرات زیرکشندگی اسانس نعناع فلفلی و نانوفرمولاسیون آن بر آماره‌های زیستی و رشد جمعیتی سفیدبالک گلخانه انجام شد، تا بتوان کارایی اسانس این گیاه را به منظور یافتن ترکیبات جایگزین کم‌خطر و همچنین امکان استفاده از آن را در قالب برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات مورد ارزیابی قرار داد.

مواد و روش‌ها

پرورش گیاه میزبان سفیدبالک گلخانه. گوجه فرنگی (رقم رابی) به‌عنوان میزبان سفیدبالک انتخاب شد و کلیه آزمایش‌های این پژوهش روی برگ‌های این گیاه انجام شد. بدین منظور، بذرهای گوجه‌فرنگی قبل از کاشت به مدت ۲۴ ساعت درون آب خیسانده شده سپس بذرهای جوانه زده، داخل گلدان‌هایی به

قطر ۱۵ و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر که حاوی محیط کشتی متشکل از ۳۰ درصد خاک، ۴۰ درصد ماسه و ۳۰ درصد ورمی‌کمپوست بودند، کاشته شدند. در هر گلدان دو تا سه بذرجوانه زده به اندازه یک بند انگشت داخل محیط کشت قرار گرفت. جهت جلوگیری از هر گونه آلودگی، گلدان‌ها به درون قفس‌های چوبی به ابعاد (۶۰ ×۶۰ ×۸۰ سانتی‌متری) منتقل شدند. پرورش گیاهان در اتاقک‌های پرورش شرایط دمایی ۲±۲۷ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۱۰±۶۰ درصد و دوره‌ی نوری ۸ : ۱۶ (تاریکی : روشنایی) صورت گرفت. لازم به ذکر است در طول دوره تشکیل کلونی و انجام آزمایش، به‌طور متناوب بذر گوجه‌فرنگی کشت می‌شد تا در صورت نیاز، گیاه در دسترس باشد. جهت انجام آزمایش از بوته‌های ۶–۸ برگی در طول مدت انجام آزمایش استفاده گردید (Reshadat-Salvanagh, 2021).

پرورش و هم‌سن سازی سفیدبالک گلخانه. جهت تشکیل کلنی سفید بالک و حفظ جمعیت آنها در طول آزمایش‌ها، حشره بالغ سفید بالک از گلخانه–های تحقیقاتی موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور با آسپیراتور جمع آوری و به گلخانه روی گلدان‌های گوجه‌فرنگی داخل قفس‌ها رهاسازی شدند. گلدان‌ها در قفس‌های چوبی تحت شرایط کنترل شده‌ی مشابه آنچه در بخش پیشین اشاره شد، پرورش داده شدند (Fahim *et al.*, 2012). به منظور ایجاد جمعیتی هم‌سن، حشرات کامل سفیدبالک توسط آسپیراتور جمع‌آوری و به قفس‌های حاوی گیاهان غیرآلوده به سفیدبالک جهت تخم‌گذاری انتقال یافته و حشرات کامل از داخل قفس پس از گذشت ۲۴ ساعت حذف شدند. بدین ترتیب با ظهور حشرات کامل هم‌سن، از آنها در آزمون‌های زیست‌سنجی استفاده شد.

تهیه نمونه گیاهی و استخراج اسانس. نعناع فلفلی (*M. piperita*) جمع‌آوری شده از شهرستان پیرانشهر (آذربایجان غربی، 36°41′40″N) در شرایط سایه خشک شد. نمونه‌های به‌دست‌آمده با استفاده از دستگاه کلونجر و روش تقطیر آبی، اسانس‌گیری شدند. برای اسانس‌گیری، ۵۰ گرم از ماده خشک درون کلونجر ریخته شده و ۶۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه شد و به مدت ۳ ساعت فرایند اسانس‌گیری ادامه پیدا کرد. برای آب‌گیری اسانس روغنی به‌دست‌آمده، از سولفات سدیم استفاده شد. اسانس‌های به‌دست‌آمده در یخچال در دمای ۴ درجه سلسیوس تا زمان استفاده نگهداری شد (Ebadollahi *et al.*, 2016).

شناسایی اجزای شیمیایی اسانس نعناع فلفلی. با توجه به ارتباط ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس‌ها در سمیت آنها روی آفات، اجزای شیمیایی اسانس مورد نظر با استفاده از دستگاه گازکروماتوگرافی–طیف سنجی جرمی (GC-MS) در آزمایشگاه فیتوشیمی موسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع کشور در تهران شناسایی شد. شناسایی اجزای شیمیایی اسانس گیاهی با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی (مدل Agilent 7890B) متصل به طیف سنج جرمی (مدل Agilent 5977A) صورت گرفت. جداسازی کروماتوگرافیکی در ستون HP-5MS با طول ۳۰ سانتی‌متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر انجام شد. درجه‌ی حرارت محفظه تزریق ۲۸۰ درجه‌ی سلسیوس بود و برنامه دمایی ستون از ۶۰ تا ۳۲۵ درجه‌ی سلسیوس تنظیم شد. گاز حامل هلیم (۹۹/۹ درصد) بود که به میزان ۱ میلی‌لیتر در هر دقیقه استفاده شد. شناسایی ترکیبات با مقایسه پیک‌های هر نمونه در زمان‌های بازداری مختلف با پیک‌های موجود در کتابخانه دستگاه (NIST: National Institute of Standards Technology و Wiley 7n.1 mass computer library) انجام گرفت (Ebadollahi *et al.*, 2016).

تهیه نانوفرمولاسیون اسانس گیاه نعناع فلفلی. اسانس گیاه نعناع فلفلی کپسوله شده با روش امولسیون بصورت خودکار self-assemble و استفاده از هموژنایزر دور بالا و انتخاب پایه‌های حلال و پلیمرهای پایه آبدوست مناسب تشکیل شد. برای تهیه این فرمولاسیون از پلیمر پلی اتیلن گلیکول (Polyethylene glycol) ۴۰۰۰ ، امولسیفایرهای پایه الکلی و آبدوست لوریل میریستیل الکل اتوکسیله (Lauryl myristyl alcohol ethoxylate) سه و هفت مول، کراس لینکر (Cross-linker). گلیسرول و تنظیم کننده pH اسید استیک پایه گیاهی (سرکه چوب pH=3) استفاده شد (Thonggooma *et al.*, 2016). مراحل مربوط به تهیه امولسیون حاوی نانوذرات کپسوله شده اسانس شامل دو مرحله تهیه نانوذرات کپسوله شده اسانس و تهیه امولسیون بود. بدین ترتیب براساس طرح جدید، برای ساخت حلال پایه آبی اسانس گیاهی، بر اساس طراحی جدیدی، ۱۰ گرم انیدریک مالیئک، ۳۰ گرم ۲– اتیل هگزانول و ۳ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۹۸٪ مخلوط شده و به مدت ۳ ساعت با سرعت ۴۰۰ دور در دقیقه همگن گردید (Overhead stirres; Heidolph-TQRQUE, Germany). محلول حاصل دوبار با محلول آبی سدیم بی‌کربنات شستشو داده شد تا دو فاز از هم جدا شوند. فاز آلی جدا شده به مدت دو ساعت با استفاده از دستگاه هموژنایزر سرعت ۵۰۰ دور در دقیقه هم زده شد. ماده‌ی حاصله با ۱ گرم سدیم سولفیت مخلوط و به مدت ۵ ساعت با سرعت ۴۰۰ دور در دقیقه همگن گردید (میزان مورد استفاده ترکیب حاصل در فرمولاسیون نهایی ۳۰ تا ۴۰ درصد وزنی– وزنی). سپس مخلوط حاصله به همراه روغن گیاهی سویا (۵ درصد)، به‌عنوان سینرژیست و اسانس گیاهی (۱۰ درصد وزنی–وزنی) با نسبت مشخص در حلال بیوپلیمری (آب مقطر) پلی اتیلن گلیکول (۱ تا ۵ درصد) با همزن مکانیکی با سرعت ۵۰۰ دور مخلوط گردید. سپس امولسیفایر پایه الکلی گیاهی لوریل مریستل الکل ۳ و ۷ مول (۱–۳ درصد وزنی – وزنی) به آن اضافه شد و با رساندن دور همزن به ۱۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه، سپس گلیسرول (۱ تا ۳ درصد وزنی – وزنی) اضافه شده و بمدت ۳۰ دقیقه با همزن مکانیکی با سرعت ۱۰۰۰دور در دقیقه مخلوط گردید. سپس اسید استیک پایه گیاهی (سرکه چوب) به بصورت قطره قطره به آن افزوده شد تا pH فرمولاسیون نهایی بصورت خنثی (pH=6-7) در بیاید و با سرعت ۱۲۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه همزده شد تا ذرات نانو کپسوله شده اسانس گیاهی در پایه حلال‌ها و پلیمر پایه آبدوست به صورت امولسیون پایدار تشکیل گردد. لازم به ذکر است تمامی مواد شیمیایی مورد استفاده مربوط به شرکت مرک (Merck) آلمان می باشند.

تعیین بازدهی کپسوله‌سازی (Encapsulation efficiency). بازدهی کپسوله‌سازی (EE) فرمولاسیون سنتز شده، پس از جداسازی اسانس کپسوله شده از اسانس آزاد (کپسوله نشده) در نانوفرمولاسیون نعناع فلفلی سنتزشده با استفاده از روش Khoobdel *et al.* (2017) با اندکی تغییر تعیین شد. غلظت اسانس آزاد در نانوفرمولاسیون نعناع فلفلی با استفاده از روش فیلتراسیون–سانتریفیوژ (Filtration–centrifugation technique) تخمین زده شد. به طور خلاصه، ۱ میلی‌لیتر از نانوفرمولاسیون نعناع فلفلی به محفظه بالایی فالکون فیلتردار ۵۰ میلی‌لیتری با منافذ ۱۰۰ کیلو دالتون (Amicon® Ultra-PLHK Ultracel-PL Membrane, 100 kDa, Merck Millipore, Germany) اضافه شده و به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شدند. پس از سانتریفیوژ، مایع شفاف جدا شده در لوله‌های آمیکون به منظور تخمین کارون آزاد در نانوفرمولاسیون نعناع فلفلی به دستگاه GC-MS تزریق شد. به منظور تهیه منحنی استاندارد ترکیبات مرجع، نمونه استاندارد کارون با غلظت های ۱۰۰، ۵۰۰ ، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰۰ پی‌پی‌ام به دستگاه تزریق شد.

کارایی اسانس با استفاده از تفاوت بین غلظت ترکیب مرجع در اسانس اولیه مورد استفاده برای تهیه نانوفرمولاسیون و میزان آن در اسانس آزاد براساس روش شرح داده شده توسط Nasseri *et al.* (2016) تعیین شد.

$$\text{درصد احتباس اسانس تعناع} = \frac{\text{مقدار کارون بعد از خالص سازی} - \text{مقدار کارون قبل از خالص سازی}}{\text{مقدار کارون قبل از خالص سازی}}$$

تعیین اندازه و شکل ذرات. به منظور بررسی ویژگی‌های ریخت‌شناسی نانوفرمولاسیون، از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM, Zeiss-EM 10C-100KV, Oberkochen, Germany) و میکروسکوپ الکترونی روبشی (TESCAN, Model: MIRA3) استفاده شد. همچنین برای اندازه‌گیری اندازه ذرات از دستگاه تفرق نور پویا Dynamic Light Scattering (DLS) ساخت شرکت Malvern Instruments انگلستان با مشخصات DTS Ver. 4.20 و شماره سریال MAL1001767 استفاده گردید.

تعیین LC_{50} و LC_{25} اسانس نعناع فلفلی و نانوفرمولاسیون آن روی سفیدبالک گلخانه. در آزمایش مقدماتی، غلظت‌هایی که تلفات ۱۰ تا ۹۰ درصد ایجاد کردند مشخص و در آزمون‌های نهایی استفاده شدند. بنابراین، غلظت‌های نهایی مورد استفاده برای هر دو تیمار اسانس نعناع فلفلی و نانواملسیون آن ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۳۰۰۰، ۵۰۰۰ و ۱۰۰۰۰ پی‌پی‌ام بود. بوته‌های گوجه‌فرنگی ۶–۸ برگی در انجام آزمایش‌ها مورد استفاده قرار گرفتند (Reshadat-Salvanagh, 2021). بدین ترتیب، دیسک‌های برگ گوجه‌فرنگی حاوی ۱۵ عدد حشرات کامل در ۵۰۰ میلی‌لیتر از هر یک از ۵ غلظت مذبور در چهار تکرار، به مدت ۵ ثانیه فرو برده شدند (Horowitz *et al.*, 2004). پس از گذشت ۲۴ ساعت از شروع آزمایش، تعداد تلفات یادداشت و درصد تلفات محاسبه شد. از اتانول ۵ درصد (Merck, Germany) به عنوان حلال اسانس استفاده شد و از دو گروه شاهد یعنی اتانول ۵ درصد و نانوفرمولاسیون (بدون اسانس) نیز در زیست سنجی استفاده شد.

اثرات زیرکشندگی اسانس نعناع فلفلی و نانوفرمولاسیون آن بر ویژگی‌های زیستی و فراسنجه‌های رشد جمعیتی سفیدبالک گلخانه. اثرات زیرکشندگی اسانس نعناع فلفلی و نانوفرمولاسیون آن (LC_{25}) بر ویژگی‌های زیستی و فراسنجه‌های جدول زندگی *T. vaporariorum* مورد بررسی قرار گرفت. به طور خلاصه، دیسک‌های برگ گوجه‌فرنگی حاوی ۳۰ فرد بالغ در غلظت‌های زیر کشنده LC_{25} از تیمارها به مدت ۱۰ ثانیه غوطه‌ور شدند (Sohrabi *et al.*, 2011). سپس برگ‌های تیمار شده به تشتک‌های پتری (قطر ۸ سانتی متر) (۳ تکرار) منتقل شدند. تمام حشرات بالغ پس از ۲۴ ساعت حذف شدند و برای هر تیمار و شاهد از ۶۰ عدد تخم هم‌سن استفاده شد. سپس تخم‌ها به صورت انفرادی به داخل تشتک‌های پتری (قطر ۸ سانتی متر) منتقل شدند. هر ۴–۳ روز یک‌بار، برگ‌های خشک شده با برگ‌های تازه و تیمار نشده جایگزین شدند. تهویه تشتک‌های پتری با ایجاد منفذ و پوشاندن آنها با توری ارگانزا انجام گرفت. رشد و بقای مراحل پیش از بلوغ برای هر فرد روزانه ثبت شد. پس از ظهور حشرات کامل، با روش Gerling & Sinai (1994) از نظر جنسی متمایز شدند. هر جفت در ظروف پلاستیکی شفاف (قطر ۱۱/۵ سانتی‌متر × ۸۵/۵ سانتی‌متر ارتفاع) حاوی برگ گوجه‌فرنگی منتقل شد. میزان بقا، مرگ و میرروزانه، طول دوره پیش از بلوغ، طول عمر حشرات کامل، طول دوره‌های تخم‌ریزی (پیش از تخم‌ریزی، دوره تخم‌ریزی و پس از تخم‌ریزی) و تولیدمثل‌حشرات کامل تا زمان مرگ همه آنها به صورت روزانه ثبت شد.

تجزیه و تحلیل آماری. جهت تعیین LC_{50} و LC_{25}، حدود بالا و پائین و آزمون سمیت نسبی جهت مقایسه سمیت اسانس خالص و نانوفرمولاسیون آن، از نرم‌افزار Polo-Plus (2002) استفاده شد. داده‌های حاصل از جدول زندگی و روند رشد جمعیت، بر اساس جدول زندگی دو جنسی سن–مرحله رشدی با استفاده از نرم افزار TWOSEX–MSChart (Chi, 2020) تجزیه گردید. میانگین و خطای استاندارد داده‌های جدول زندگی، با استفاده از روش Bootstrap محاسبه شد و ترسیم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار سیگما پلات انجام شد (SigmaPlot 2012,Ver. 12.3).

نتایج

شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس نعناع فلفلی. نتایج مربوط به تجزیه و آنالیز ترکیب‌های شیمیایی موجود در در اسانس نعناع فلفلی توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی/ اسپکترومتری جرمی در جدول ۱ نشان داده شده است. در آنالیز شیمیایی مربوط به اسانس این گیاه ۱۹ ترکیب شناسایی شد که ترکیبات اصلی شامل مونوترپن‌های کارون (۵۷/۱۳ ٪)، لیمونن (۲۶/۹۰ ٪)، بتا پنین (۲/۱۰ ٪)، پولگون (۱/۶۵ ٪) و ۱و ۸ سینئول (۱/۰۰ ٪) است.

تعیین بازدهی بارگذاری اسانس. بازدهی کپسوله‌سازی برای نانوفرمولاسیون اسانس نعناع فلفلی ۸۶/۰۸ درصد بدست آمد.

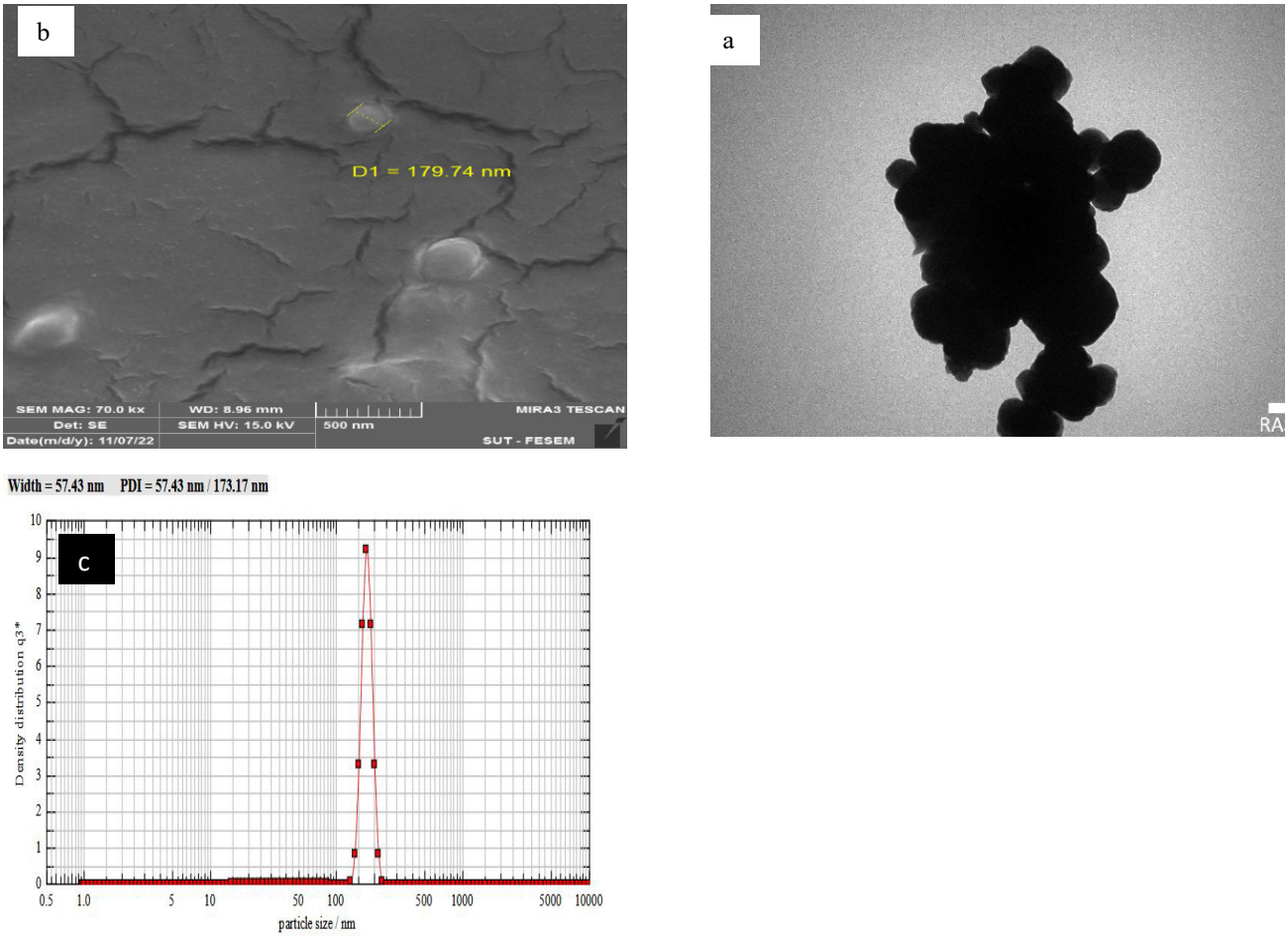
تعیین اندازه و شکل ذرات. مطالعه ویژگی‌های نانوفرمولاسیون با استفاده از روش دستگاه تفرق نور پویا و میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) و روبشی (SEM) نشان داد که نانوفرمولاسیون مربوط به اسانس نعناع فلفلی، کروی شکل بوده و اندازه متوسط آن در حدود ۱۷۹/۷۴ نانومتر بود (شکل ۱).

تعیین LC_{50} و LC_{25} اسانس نعناع فلفلی و نانوفرمولاسیون آن روی سفیدبالک گلخانه. نتایج حاصل از زیست‌سنجی اسانس و نانوفرمولاسیون اسانس نعناع فلفلی روی حشرات کامل سفیدبالک گلخانه پس از ۲۴ ساعت در شرایط آزمایشگاهی در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۱– شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس نعناع فلفلی با استفاده GC-MS

Table 1. Characterization of chemical constituents of *Mentha piperita* essential oil using GC/MS.

Components	Retention Time (min)	Area % (GC)
α-pinene	10.96	1.09
sabinene	12.30	0.66
β-pinene	12.60	2.10
limonene	14.43	26.90
1,8-cineole	14.61	1.00
3-octanol acetate	17.73	0.30
dihydro carveol	21.40	0.74
cis-dihydro carvone	21.60	3.76
trans-dihydro carvone	21.98	0.43
trans-carveol	22.41	0.47
cis-carveol	22.96	0.22
pulegone	23.50	1.65
carvone	23.77	57.13
trans-carvone oxide	25.16	0.34
menthyl acetate	26.95	0.29
iso-dihydro carveol acetate	28.41	0.61
β-bourbonene	30.1	0.53
E-caryophyllene	31.54	1.53
germacrene D	38.15	0.23



شکل ۱– تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) (a)، روبشی (SEM) (b) و توزیع اندازه پراکندگی ذرات (C) در نانوفرمولاسیون نعناع فلفلی.

Fig. 1. Transmission Electron Micrographs (TEM) (A), Scanning Electron Microscopy (SEM) (B) image and size distribution of *Mentha piperita* nanoformulation (C).

جدول ۲– حساسیت حشرات کامل سفیدبالک گلخانه به اسانس نعناع فلفلی و نانوفرمولاسیون آن ۲۴ ساعت پس از تیمار

Table 2. Susceptibility of adult stage of greenhouse whitefly to peppermint essential oil, *Mentha piperita*, and its nanoformulation 24 h after treatment.

	LC_{25} (95% CL) (ppm)	LC_{50} (95% CL) (ppm)	LC_{90}(95% CL) (ppm)	Slope±SE	X^2 (df= 3)	*p*-Value	RMP	95% C.L.
M. piperita	2145.91 (1576.34-2675.12)	4536.11 (3546.10-622.14)	18808.0 (11635.0-47603.0)	2.075±0.36	0.24	0.08	1.34	(0.14-1.31)*
Nanoemolsion	1762.76 (1317.20-2166.91)	3375.41 (2705.01-4269.74)	11597 (8075.82-19511.06)	2.391±0.03	0.75	0.25		

*CL: confidence limits; RMP: relative median potency; *: at 5% significance level.

میزان LC_{50} اسانس و نانوفرمولاسیون آن در این مطالعه ۴۵۳۶ و ۳۳۷۵ پی‌پی‌ام برآورد شد. نتایج زیست‌سنجی‌ها نشان داد میزان سمیت نانوفرمولاسیون نعناع فلفلی روی حشرات کامل سفیدبالک گلخانه بیشتر از اسانس خالص بود. در حقیقت فرموله‌کردن اسانس در اندازه‌های نانو توانسته است به طور معنی‌داری سبب افزایش خصوصیات سمیت تماسی اسانس مورد مطالعه روی حشرات کامل سفیدبالک گلخانه شود.

اثرات زیرکشندگی اسانس نعناع فلفلی و نانوفرمولاسیون آن بر ویژگی‌های زیستی و فراسنجه های رشد جمعیتی سفیدبالک گلخانه. طول دوره‌های مختلف زیستی و ویژگی‌های تولیدمثلی سفیدبالک گلخانه در تیمارهای مختلف در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج نشان داد طول دوره‌های مختلف زیستی بین تیمارهای مختلف به‌طور معنی‌داری متفاوت بود ($P<0.05$). بیشترین و کمترین طول دوره جنینی به‌ترتیب در تیمار نانوفرمولاسیون اسانس نعناع فلفلی (۰/۱۱۴ ± ۷/۸۸ روز) و شاهد (۰/۱۲۴ ± ۷/۲۲ روز) به‌دست آمد. همانطور که نتایج نشان می‌دهد استفاده از اسانس و نانوفرمولاسیون اسانس نعناع فلفلی تاثیر معنی‌داری بر تعداد روزهای تخم‌ریزی سفیدبالک گلخانه دارد. بیشترین و کمترین تعداد روزهای تخمریزی سفیدبالک به‌ترتیب در تیمارهای شاهد (۰/۲۲۸ ± ۵/۱۴ روز) و نانوفرمولاسیون نعناع فلفلی (۰/۱۹۰ ± ۴/۳۳ روز) مشاهده شد. همچنین، میانگین کل باروری با استفاده از اسانس و نانوفرمولاسیون نعناع فلفلی تغییر کرد. بیشترین طول عمر ماده (۰/۲±۸/۰۴ روز) در گروه شاهد ثبت شد. اثرات اسانس نعناع فلفلی و نانوفرمولاسیون آن بر کل دوره قبل از تولید مثل (TPRP)، دوره قبل از تولید مثل حشرات کامل (APRP)، روزهای تخمگذاری، و همچنین باروری در جدول ۳ نشان داده شده است. تاخیر تخمگذاری (TPRP) در جمعیت تخمگذار مشاهده شد. کوتاه‌ترین و طولانی‌ترین و TPRP به ترتیب در گروه شاهد (۲۴/۲۱روز) و تیمارهای اسانس به‌دست آمد (جدول ۳).

اثرات زیرکشندگی اسانس نعناع فلفلی و نانوفرمولاسیون آن بر فراسنجه‌های رشد جمعیت سفیدبالک گلخانه. فراسنجه‌های رشد جمعیت سفیدبالک گلخانه در تیمارهای مختلف در جدول ۴ آورده شده است. همانطور که نتایج نشان می‌دهد، تمام فراسنجه‌های رشد جمعیت سفیدبالک در تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری با یکدیگر دارند. نرخ متناهی افزایش جمعیت نیز با استفاده از اسانس نعناع فلفلی کاهش یافت. طول دوره یک نسل نیز به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر اسانس و نانوفرمولاسیون نعناع فلفلی بود.

اثرات زیرکشندگی اسانس نعناع فلفلی و نانوفرمولاسیون آن بر نرخ بقا، زادآوری ناخالص، زادآوری خالص، امید به زندگی و نرخ تولید مثلی ویژه سنی سفیدبالک گلخانه. منحنی‌های مربوط به نرخ زنده‌مانی ویژه سن- مرحله‌ی زیستی سفیدبالک گلخانه (S_{xj}) تحت تاثیر غلظت زیر-کشنده اسانس نعناع فلفلی و نانوفرمولاسیون آن در شکل ۲ نشان داده شده است. نتایج ما نشان داد که نرخ بقای ویژه سنی سفیدبالک گلخانه در زمان ورود به مرحله حشره کامل ماده، با شاهد (۹۴/۳۳ درصد) و تیمارهای اسانس نعناع فلفلی (۹۰/۱۶ درصد) و نانوفرمولاسیون (۶۸/۶۶ درصد) بود. به‌طوری که کاهش میزان نرخ بقای مرحله‌ی ماده‌ی بالغ در غلظت زیرکشنده تیمارهای مورد آزمایش نسبت به شاهد مشاهده گردید (شکل ۲). منحنی امید به زندگی ویژه سن- مرحله رشدی سفیدبالک گلخانه در شکل ۳ نشان داده شده است. روز صفر امید به زندگی مرحله تخم از ۲۹/۸۲ روز در تیمار شاهد به ۲۹/ ۸۰روز در تیمار نانوفرمولاسیون کاهش یافت.

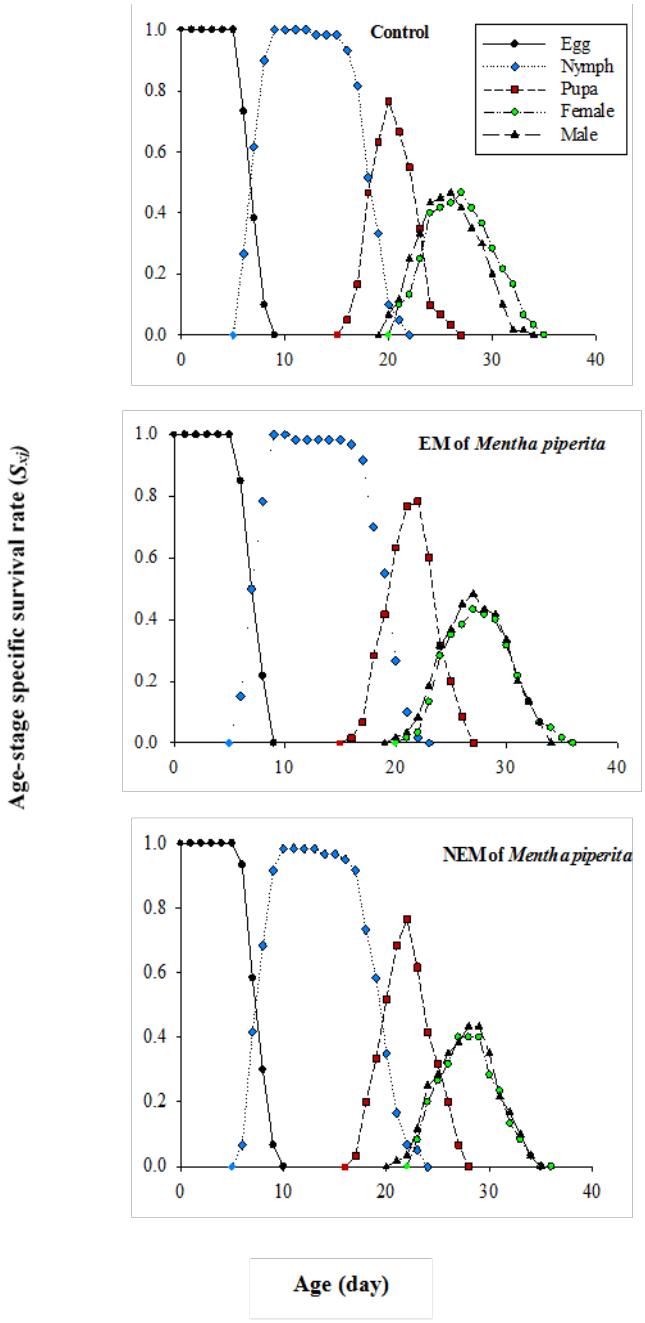
جدول ۳– اثرات زیرکشندگی اسانس و نانوفرمولسیون نعناع فلفلی بر طول دوره‌های مختلف زیستی و ویژگی‌های تولیدمثلی سفیدبالک‌گلخانه.

Table 3. The sublethal effects of *Mentha piperita* essential oil and its nanoformulation on different biological periods and the reproductive characteristics of greenhouse whitefly.

	Control	*M. piperita*	Nanoemolsion
Egg (days)	7.22±0.124^{b} (60)	7.57±0.129^{a} (57)	7.88±0.1139^{a} (52)
Nymph (days)	11.55±0.157^{b} (56)	11.98±0.179^{ab} (55)	12.19±0.176^{a} (52)
Pupa (days)	4.71±0.576^{ab} (56)	4.55±0.096^{b} (55)	4.79±0.114^{a} (52)
Preadult (day)	22.88±0.22^{b} (56)	24.11±0.218 ab (55)	24.87±0.241^{a} (52)
Preadult survival rate (%)	0.933 ^{a} (56)	0.917^{b} (49)	0.867^{c} (43)
Adult longevity of female (days)	8.04±0.200^{a} (28)	7.50±0.190^{b} (23)	7.08±0.180^{c} (21)
Adult longevity of male (days)	6.79±0.120^{b} (28)	7.28±0.150^{ab} (28)	7.54±0.160^{a} (26)
Total longevity (day)	29.82±0.49^{b} (60)	30.37±0.552^{a} (60)	29.80±0.72^{b} (60)
*APRP (day)	0.93±0.05^{a} (28)	0.92±0.05^{b} (26)	0.92±0.06^{b} (24)
*TPRP (day)	24.21±0.32^{b} (28)	25.15±0.29^{a} (26)	25.75±0.3^{a} (24)
Reproductive days (day)	5.14±0.0228^{a} (28)	4.62±0.150^{b} (26)	4.33±0.190^{c}(24)
Fecundity (eggs/♀)	25.68±1.41^{a}(28)	22.73±1.05^{b}(26)	21.00±1.31^{c}(24)

حروف مختلف در هر ردیف اختلاف معنی‌دار بین تیمارها را در سطح ۵ درصد بر اساس روش‌بوت استرپ با ۱۰۰۰۰۰ تکرار نشان می‌دهند.

The means followed by different letters in each raw are significantly different (paired bootstrap at 5% significance level by 100,000 bootstrap resampling). * APRP: adult pre reproductive period; TPRP: total pre reproductive period.



شکل ۲– اثرات زیر کشندهی اسانس نعناع فلفلی و نانوفرمولسیون آن بر نرخ بقا ویژه سن–مرحلهای (S_{xj}) سفیدبالک گلخانه.

Fig. 2. Sublethal effects of *Mentha piperita* essential oil and its nanoformulation on the age-stage specific survival rate (S_{xj}) of greenhouse whitefly.

بررسی منحنی زادآوری ناخالص ویژه سنی (m_x) وزادآوری خالص ویژه سنی ($l_x m_x$) نشان داد که تیمار با غلظتهای زیرکشنده اسانس نعناع فلفلی و نانوفرمولاسیون باعث اثرات سوء روی حشرات بالغ سفیدبالک گلخانه شده و شروع تخمریزی را در آنها نسبت به شاهد به تأخیر میاندازند. حشرات کاملی که از تخمهای تیمار شده با اسانسها تکامل یافته بودند با تاخیر وارد مرحله تولیدمثلی شدند که این مقدار در تیمار نانوفرمولاسیون (۲۵/۷۵روز عمر) و در تیمار شاهد (۲۴/۲۱ روز عمر) بود (شکل ۴).

ارزش تولیدمثلی (v_{xj}) عبارت است از تعداد نتاجی که انتظار میرود توسط یک فرد در سن x و در مرحله رشدی j در باقی مانده عمرش تولید کند. نمودارها بیانگر کاهش میزان نرخ یا ارزش تولیدمثلی در حشرات تیمارشده با اسانس و نانوفرمولاسیون نسبت به تیمار شاهد بود. به طوریکه بیشترین نرخ یا ارزش تولیدمثلی در مادهها به ترتیب در تیمارشاهد (۲۵/۵۳ تخم/بیست و سومین روز)، اسانس نعناع فلفلی (۲۴/۴۵ تخم/ بیست و سومین روز) و نانوفرمولاسیون (۲۱/۰۹ تخم/ بیست و پنجمین روز) به دست آمد (شکل ۵).

جدول ۴– اثرات زیرکشندگی اسانس و نانوفرمولاسیون نعناع فلفلی بر فراسنجه‌های رشد جمعیت سفیدبالک گلخانه.

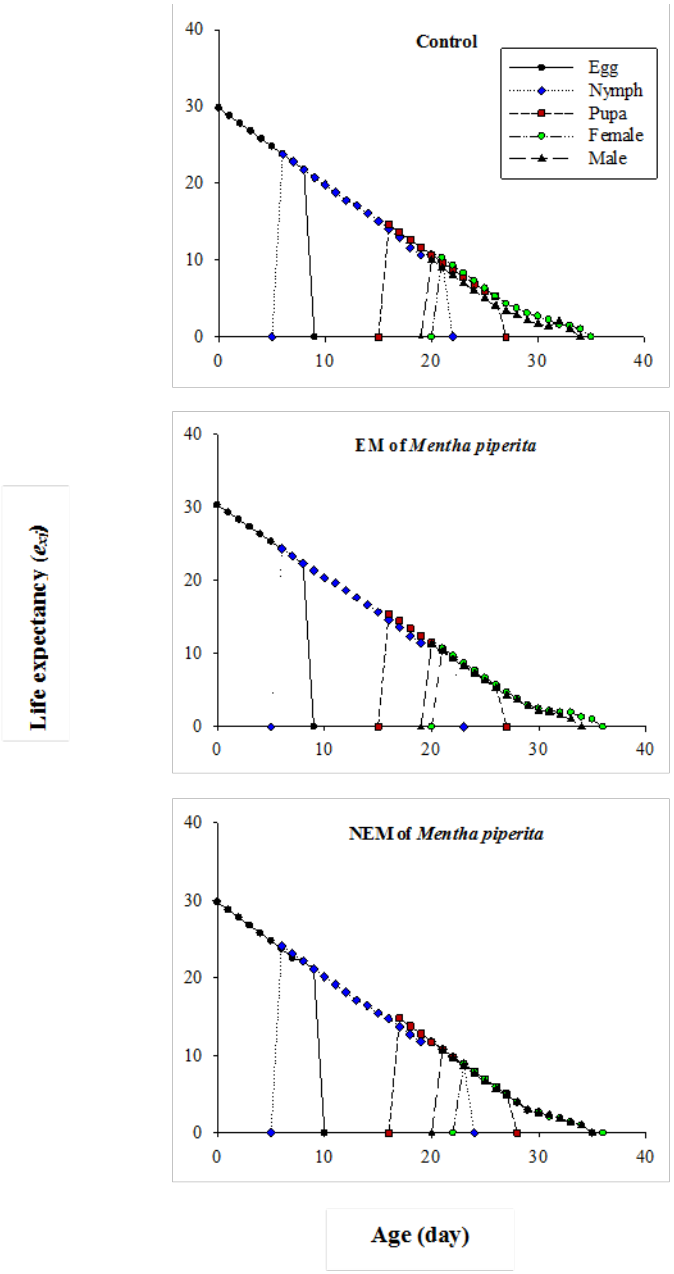
Table 4. The sublethal effects of *Mentha piperita* essential oil and its nanoformulation on life table parameters of greenhouse whitefly.

Population parameters	Control	*M. piperita*	Nanoemolsion
Intrinsic rate of increase (r) (d^{-1})	0.094±0.006a	0.084±0.006a	0.076±0.006ab
Finite rate of increase (λ) (d^{-1})	1.098±0.006a	1.087±0.006ab	1.079±0.007b
Net reproductive rate (R_0)	11.983±1.778a	9.850±1.525ab	8.400±1.423ab
Mean generation time (T) (d)	26.551±0.308b	27.344±0.29a	27.877±0.315a
Gross reproductive rate (*GRR*)	14.480±2.001a	11.55±1.727b	10.60±1.728c

حروف مختلف در هر ردیف اختلاف معنی‌دار بین تیمارها را در سطح ۵ درصد بر اساس روش‌بوت استرپ با۱۰۰۰۰۰ تکرار نشان می‌دهند.

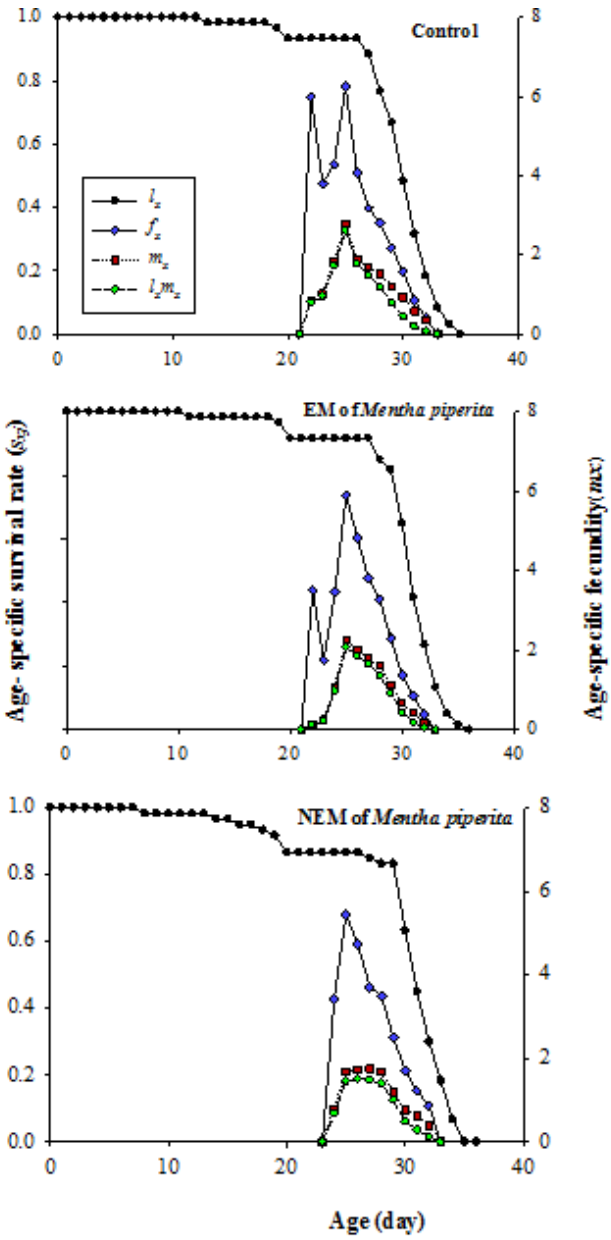
The means followed by different letters in each raw are significantly different (paired bootstrap at 5% significance level by 100,000 bootstrap resampling).

R_0: net reproductive rate (offspring per female); *GRR*: gross reproductive rate (offspring per female); r: intrinsic rate of increase (per day); λ: finite rate of increase (per day); T: generation time (day).



شکل ۳– اثرات زیر کشنده‌ی اسانس نعناع فلفلی و نانوفرمولاسیون آن بر امید به زندگی سن–مرحله‌ای (e_{xj}) سفیدبالک گلخانه.

Fig. 3. Sublethal effects of *Mentha piperita* essential oil and its nanoformulation on life expectency (e_{xj}) of greenhouse whitefly.



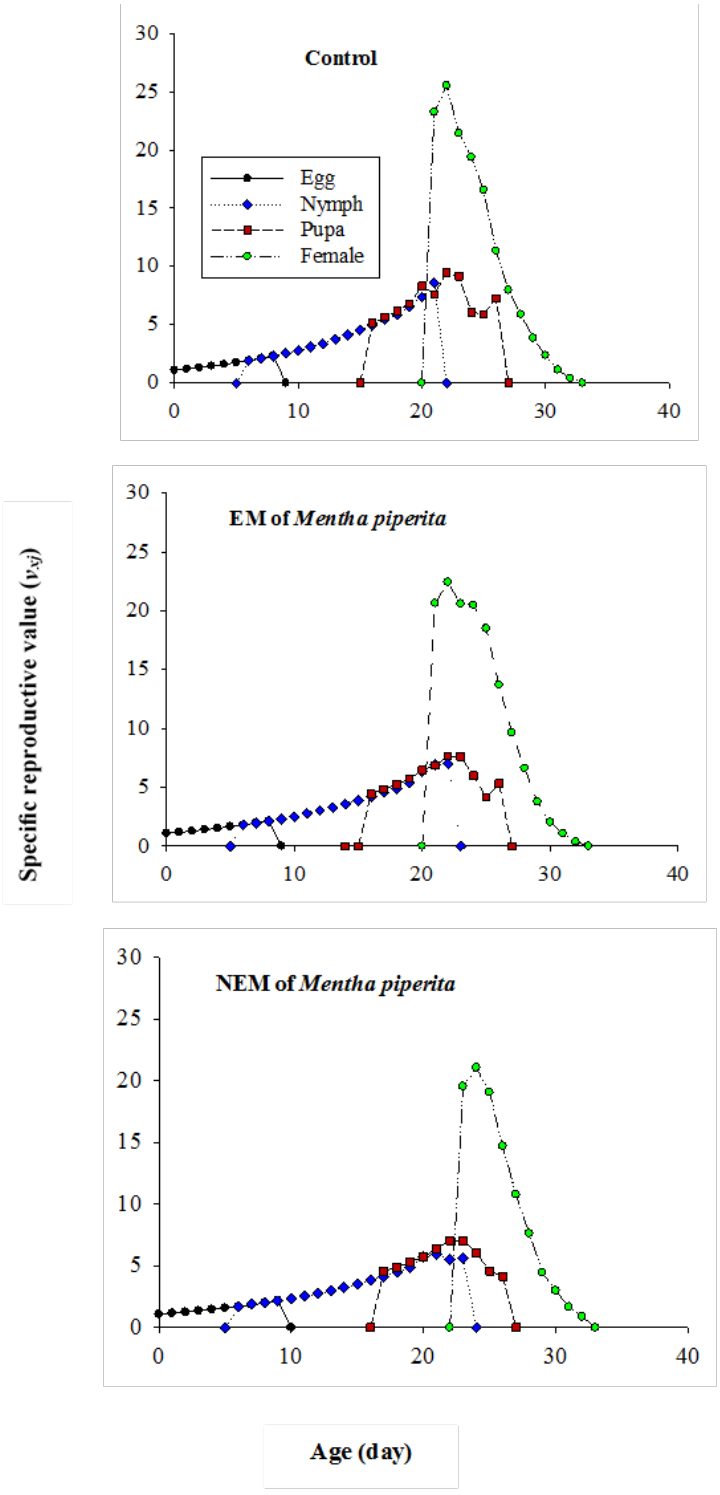
شکل ۴- اثرات زیر کشنده‌ی اسانس نعناع فلفلی و نانوفرمولاسیون آن بر زنده‌مانی ویژه سنی (l_x)، باروی ویژه سن ماده (f_x)، باروری ویژه سن–مرحله‌ای (m_x) و باروری خالص روزانه (l_xm_x) سفیدبالک گلخانه.

Fig. 4. Sublethal effects of *Mentha piperita* essential oil and its nanoformulation on age-specific survival (l_x), female age-specific fecundity (f_x), age-stage specific fertility (m_x) and age- specific fecundity (l_xm_x) of greenhouse whitefly.

بحث و نتیجه گیری

تاکنون مطالعات فراوانی به منظور شناسایی ترکیبات موجود در اسانس نعناع فلفلی در سرتاسر دنیا صورت گرفته است که در همه آن‌ها ترکیبات پولگون، ۱و۸ سینئول، آلفا و بتا پینین و منتول با وجود تفاوت در مقادیر آنها در همه نمونه‌های مورد بررسی وجود داشته است (Sampson *et* ؛ Saeidi & Mirfakhraie, 2017 Iusucan *et al.,* 2002؛ *al.,* 2005). در مطالعات Tyagi & Malik (2011) ، ۱۸ ترکیب در اسانس نعناع فلفلی شناسایی شد که مهم‌ترین آنها آلفا و بتا پنین (α- and β -pinene pinene) لیمونن، منتول (Menthol) و پولگون بودند این ترکیبات در مقادیر متفاوت در مطالعه حاضر نیز شناسایی شد. منتول و منتون دو ترکیب اصلی شناسایی شده در آنالیز شیمیایی اسانس نعناع فلفلی در مطالعه راجکومار و همکاران گزارش شد (Rujkumar *et al.,* 2019)، که در نمونه مورد

مطالعه در این پژوهش شناسایی نشد. زیستگاه گونه گیاهی، زمان برداشت، مرحله رشدی، منطقه جغرافیایی، جنس خاک، کیفیت مواد غذایی در دسترس گیاه، ژنتیک گیاه و روش استخراج اسانس عواملی هستند که نوع و میزان ترکیبات شناسایی شده را تحت تاثیر قرار می دهند (Isman, ؛ Rajkumar *et al.*, 2020 2020). همچنین روش‌های اسانس‌گیری، آنالیز ترکیبات و مدت زمان اسانس‌گیری از جمله عواملی هستند که سبب ایجاد تفاوت در پروفایل ترکیبات شناسایی شده در اسانس‌های مورد مطالعه می‌شوند (Tarigan *et al.*, 2016).



شکل ۵– اثرات زیرکشندگی اسانس نعناع فلفلی و نانوفرمولاسیون آن بر ارزش تولیدمثلی سن-مرحله زیستی (v_{xj}) سفیدبالک گلخانه.

Fig.5. The sublethal effects of *Mentha piperita* essential oil and its nanoformulation of on the Age-stage specific reproductive value (v_{xj}) of greenhouse whitefly.

فعالیت حشره‌کشی اسانس‌های گیاهی مربوط به وجود مونوترپن‌های اکسیژنه در این ترکیبات است که بیش از ۶۰ درصد کل ترکیب اسانس را تشکیل می‌دهند، این ترکیبات به علت خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالا دارای فعالیت حشره‌کشی بوده و به عنوان آفت‌کش‌های زیستی شناخته می‌شوند (Nickavar *et al.,* 2018؛ Salem *et al.,* 2017). کارون به عنوان یک مونوترپن که بیشترین مقدار را در ترکیبات شناسایی شده در اسانس نعناع فلفلی در این مطالعه داشت باعث فعالیت ضدکولین استرازی در حشرات می‌شود، بنابراین می‌تواند به عنوان یک حشره‌کش موثر در برابر بسیاری از آفات عمل کند (Kim *et al.,* 2013؛ Kłyś *et al.,* 2020). لیمونن و ۱و۸ سینئول شناسایی شده در اسانس گیاه مورد مطالعه به عنوان ترکیباتی با کارایی زیستی و حشره‌کشی موثر هستند که در بسیاری از اسانس‌ها و ترکیبات گیاهی دیگر نیز وجود دارند (Kumar *et al.,* 2011؛ Filomeno *et al.,* 2020). مشابه یافته‌های این پژوهش، در مطالعه Heydarzadeh *et al.* (2019) ، ۱و۸ سینئول، در دو گونه پونه (۷/۴۷ درصد) و نعناع فلفلی (۵/۰۵ درصد) شناسایی شده بود.

اندازه ذرات نانوکپسوله شده به روش امولسیون اسانس نعناع فلفلی در میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) تقریباً کمتر از ۲۰۰ نانومتر بود. حیدرزاده و همکاران اندازه ذرات نانوفرمولاسیون نعناع فلفلی را با استفاده محلول سدیم آلژینات را حدود ۱۰۰ نانومتر گزارش کردند (Heydarzadeh *et al.,* 2019). تفاوت در اندازه نانو ذرات و شکل آن‌ها می‌تواند به دلیل روش تهیه و نوع پلیمر مورد استفاده باشد (Oftadeh *et al.,* 2021). براساس نتایج آنالیز پروبیت در این بررسی می‌توان نتیجه گرفت که نانوفرمولاسیون کردن اسانس موجب افزایش سمیت آن روی سفیدبالک گلخانه می‌شود. سمیت افزایش یافته نانوفرمولاسیون اسانس در مقایسه با فرم خالص آن را احتمالا می‌توان به اندازه کوچک ذرات، تراکم و انبوهی آن‌ها و همچنین تفاوت در حلالیت، پروفایل نفوذ و میزان سم‌زدایی اسانس و نانوفرمولاسیون آن نسبت داد. در نانوذرات اسانس به دلیل کوچکی، مساحت سطح ذره افزایش یافته و قدرت چسبندگی ذره بیشتر می‌شود و پتانسیل جذب و اثر متقابل روی بافت‌های زیستی به طور چشمگیری افزایش می‌یابد (Sasson *et al.,* 2007؛ Gonzalez *et al.,* 2014).

در بررسی‌های مختلف، سمیت گیاه نعناع فلفلی در برابر آفات مختلف گزارش شده و تاثیر به‌سزای اسانس و عصاره این گیاه در کنترل آفات نشان داده شده است (Lee *et al.,* 2002؛ Lashgari *et al.,* 2014؛ Benelli *et al.,* 2018؛ Rajkumar *et al.,* 2019). بررسی‌های سایر پژوهشگران نیز نشان داده که افزایش غلظت این اسانس باعث افزایش تلفات در جمعیت سایر آفات می‌شود (Pavela *et al.,* 2014؛ Salem *et al.,* 2017؛ Nickavar & Jabbareh, 2018). بیشتر مطالعات صورت گرفته در بررسی تاثیر اسانس‌های گیاهی بر آفات مختلف به صورت تدخینی با استفاده از کاغذ صافی و بر حسب میکرولیتر بر لیتر هوا بوده که با نتایج این آزمایش که به صورت تیمار برگ و بر حسب پی‌پی‌ام است قابل مقایسه نیست. با این حال، در پژوهشی که به منظور مطالعه تاثیر دو اسانس آویشن و نعناع بر سفیدبالک گلخانه صورت گرفت مشخص شد این دو اسانس در غلظت ۸ پی‌پی‌ام به ترتیب باعث ۱۰۰ و ۶۲/۷۵ درصد تلفات در حشرات تیمار شدند (Aroiee *et al.,* 2005). در پژوهشی سمیت تدخینی ، تاثیر غلظت ۰/۰۱۲ میکرولیتر بر میلی لیتر اسانس نعناع *M. spicata* روی تخم، پوره و حشره کامل سفیدبالک گلخانه به ترتیب سبب تلفات ۷۲، ۸۶ و ۸۳ درصدی شد (Fahim *et al.,* 2012). بلندنظر و همکاران میزان LC_{50} حاصل از سمیت تماسی اسانس‌های رزماری، نعناع فلفلی، اکالیپتوس و عصاره آویشن باغی به ترتیب ۴۱۹۸، ۳۹۲۵، ۴۳۱۲ و ۹۶۲۶ میلی‌گرم بر لیتر بر پوره سن دوم سفیدبالک پنبه گزارش کردند (Bolandnazar *et al.,* 2018). در موارد مشابه قدرت حشره‌کشی بسیاری از ترکیبات گیاهی با فرموله کردن آنها نسبت به اسانس خالص افزایش یافت. قدرت حشره‌کشی نانوفرمولاسیون حاصل از اسانس *C. sinensis* در برابر *T. confusum* در مقایسه با اسانس خالص افزایش یافت (Giunti, 2019).

در این پژوهش از تئوری جدول زندگی دوجنسی ویژه مرحله زیستی به منظور ارزیابی فراسنجه‌های زیستی و رشد جمعیتی سفیدبالک گلخانه تحت تأثیر اسانس و نانوفرمولاسیون اسانس نعناع فلفلی استفاده شد. نتایج این پژوهش توصیف جامعی از زنده‌مانی، رشد و تولیدمثل افراد یک گروه سنی را فراهم می‌کند (Hu *et al.,* 2010). آفت‌کش‌های گیاهی، نه تنها در کوتاه مدت اثرات کشنده‌ای بر آفات حشرات دارند، بلکه با کاهش طول عمر بالغین و باروری در نسل F1 اثرات کشنده‌ای در دراز مدت دارند (Studebaker & Kring, 2001؛ Grafton-Cardwell *et al.,* 2005؛ Ramzi *et al.,* 2022). در این پژوهش، طول دوره جنینی سفیدبالک گلخانه در تیمار شاهد شبیه به طول دوره جنینی گزارش شده توسط Patel *et al.* (2022) (۷/۰۷ روز) بود. در این بررسی که اسانس و نانوفرمولاسیون نعناع فلفلی کاهش قابل توجهی در باروری، زمان نمو و طول عمر بالغ سفیدبالک گلخانه نشان دادند که می‌تواند منجر به کاهش سطح آسیب به گیاه، به دلیل تولید نتاج کمتر و کوتاه‌تر شدن زمان تغذیه آفت شود. نتایج مشابهی از اثرات زیرکشندگی آزادیراکتین و پالیزین (Rahmani Aghdam *et al.,* 2022)، بینو ۲ (Reshadat Salvanagh *et al.,* 2022) و تنداکسیر و سالپی پست (Saeedi, 2022) بر کاهش میزان باروری و طول عمر حشرات کامل ماده وجود دارد. نتایج ما نشان داد که تاثیر نانوفرمولاسیون نسبت به اسانس خالص نعناع فلفلی بر فراسنجه‌های زیستی مؤثرتر بود و تأثیرات قابل‌توجهی بر نرخ رشد جمعیت نتاج آنها داشت. همچنین فراسنجه‌های رشد جمعیت (به عنوان مثال R_0، r و λ) در نتاج تحت تیمار با اسانس و نانوفرمولاسیون نعناع فلفلی به طور قابل توجهی کمتر از شاهد بود. استفاده از فرمولاسیون آفت‌کش‌های گیاهی، یکی از راهکارهای اساسی برای افزایش کارایی آنهاست، چرا که حساسیت بالای سفیدبالک گلخانه‌ای به ترکیبات گیاهی فرموله شده نظیر بینو۲ (Reshadat- Salvanagh *et al.,* 2022)، آزادیراکتین، پالیزین (Rahmani- Aghdam *et al.,* 2022)، تنداکسیر و سالپی پست (Saeedi, 2022) نسبت به اسانس نعناع فلفلی و نانوفرمولاسیون آن در این پژوهش را می‌توان به فرم فرموله شده و نوع ترکیبات گیاهی آنها ربط داد. در چند پژوهش مشابه اسانس نعنا فلفلی روی کنه *Tetranychus chinnabarinus*، سه گونه آفت انباری شامل *Acanthoscelides obtectus* S.، *Sitophilus granaries* L. و *Sitophilus oryzae* L. و لاروها و حشرات کامل سوسک سیاه قالی (*Attagenus fasciatus* Th.) چنین تاثیری را بر فراسنجه‌های جدول زندگی آفات مذبور داشتند (Aslan *et al.,* 2004؛ Bakr *et al.,* 2010).

نتیجه گیری نهایی

نتایج حاصل از بررسی اثرات کشندگی اسانس نعناع فلفلی در پژوهش حاضر نشان داد این گیاه به ویژه نانوفرمولاسیون آن دارای پتانسیل بالایی در کنترل آفت ذکر شده دارد. همچنین نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که هردو اسانس نعناع فلفلی و نانوفرمولاسیون با افزایش طول دوره‌های زیستی، افزایش مراحل

قبل از تخمریزی، کاهش طول دوره تخمریزی و کاهش میزان باروری، دارای اثرات زیرکشندگی نسبت به شاهد داشتند، به طوری که نانوفرمولاسیون نعناع فلفلی باعث افزایش بیشتر طول دوره‌های مراحل نابالغ نسبت به تیمارها گردید. همچنین فراسنجه‌های رشد جمعیتی در حشرات تیمارشده با نانوفرمولاسیون نعناع فلفلی کمتر و سرعت نرخ رشد جمعیتی پایین‌تر از شاهد بود. به موازات پیشرفت‌های روزافزون تولید فرمولاسیون‌های تجاری اسانس‌های گیاهی در سایر کشورها، نتایج حاصله از این پژوهش می‌تواند به عنوان ترکیب مکمل حشره‌کش‌های شیمیایی در شرایط گلخانه‌ای به منظور کاهش اثرات سو ناشی از آفت‌کش‌های شیمیایی با کمترین خطر برای دشمنان طبیعی و محیط زیست پیشنهاد شود. بنابراین به منظور تائید نتایج آزمایشگاهی مطالعه حاضر، بررسی‌های تکمیلی در زمینه دوام، اثرات کشندگی و زیرکشندگی اسانس نعناع و نانوفرمولاسیون آن روی آفت در شرایط گلخانه‌ای و مزرعه‌ای بهتر است انجام شود.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله، از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه ارومیه برای حمایت مالی این پژوهش کمال تقدیر و تشکر را دارند.

حمایت مادی و معنوی

این طرح با حمایت مادی و معنوی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه ارومیه انجام شده است.

REFERENCES

Anjali, C. H., Sharma, Y., Mukherjee, A. & Chandrasekaran, N. (2012) Neem oil (*Azadirachta indica*) nanoemulsion—a potent larvicidal agent against *Culex quinquefasciatus*. *Pest Management Science* 68(2), 158-163. https://doi.org/10.1002/ps.2233.

Aroiee, H., Mosapoor, S. & Karimzadeh, H. (2005) Control of greenhouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*) by Thyme and peppermint. *KMITL Science Journal* 5(2), 511-514.

Aslan, İ., Özbek, H., Çalmaşur, Ö. & Şahİn, F. (2004) Toxicity of essential oil vapours to two greenhouse pests, *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. *Industrial Crops and Products 19*(2), 167-173. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2003.09.003.

Bakr, R. F. A., Fattah, H. M. A., Salim, N. M. & Atiya, N. H. (2010) Insecticidal activity of four volatile oils on two museum insect pests. *Journal of Biological Sciences* 2 (2), 57- 66. https://doi.org/10.21608/eajbsf.2010.17454.

Benelli, G., Pavela, R., Giordani, C., Casettari, L., Curzi, G., Cappellacci, L., Petrelli, R. & Maggi, F. (2018) Acute and sub-lethal toxicity of eight essential oils of commercial interest against the filariasis mosquito *Culex quinquefasciatus* and the housefly *Musca domestica*, *Industrial Crops and Products* 112, 668–680. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.12.062.

Bi, J. L. & Toscano, N. C. (2007) Current of the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum*, susceptibility to neonicotinoid and conventional insecticides on strawberries in Southern California. *Pest Management Science* 63(8), 747-752.https://doi.org/10.1002/ps.1405.

Bolandnazar, A., Ghadamyari, M., Memarzadeh, M., Jalali Sandi, J. & Zolfaghari, M. (2020) Investigation of biochemical and enzymatic changes induced by emulsion and nanoemulsion formulations of some essential oils and an herbal extract on *Bemisia tabaci* (Gennadius). *Iranian Journal of Plant Protection Science* 50(2), 143-158. https://doi.org/10.22059/ijpps.2019.270778.1006868.

Bolandnazar, A., Ghadamyari, M., Memarzadeh, M. & Jalali Sandi, J. (2018) Oviposition inhibitory and lethal effect of essential oils of rosemary, peppermint and eucalyptus and thyme extract, formulated as nano- and microemulsions, on *Bemisia tabaci* under greenhouse condition. *Journal of Entomological Society of Iran* 38 (1), 81-97. https://doi.org/10.22117/jesi.2018.116014.1152.

Braham, M. & Hajji, L. (2011) Management of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) with insecticides on tomatoes. *Insecticides-Pest Engineering* 333-354. https://doi.org/10.5772/27812.

Capinera, J. L. (2008) Greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae). In: J.L. Capinera (ed.). Encyclopedia of Entomology. Springer.1835–1840.Dordrecht.Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, The Netherlands. Boston. MA.USA. London. UK.

Castle, S. J., Palumbo, J. C., Prabhaker, N., Horowitz, A. R. & Denholm, I. (2010) Ecological determinants of Bemisia tabaci resistance to insecticides. In P.A. Stansly & S. E. Naranjo(eds.). Bemisia: Bionomics and Management of a Global Pest.423-465.Springer.https://doi.org/10.1007/978-90-481-2460-2_16.

Chi, H. (2020) TWOSEX-MSChart: a computer program for age stage, two-sex li fe table analysis. National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan; available from http://140.120.197.173/ Ecol ogy/Download/TWOSEX-MSChart.rar.

Cloyd, R. A., Galle, C. L., Keith, S. R., Kalscheur, N. A. & Kemp, K. (2009) Effect of commercially available plant-derived essential oil products on arthropod pests. *Journal of Economic Entomology* 102 (4), 1567-1579. https://doi.org/10.1603/029.102.0422.

Desneux, N., Decourtye, A. & Delpuech, J. M. (2007) The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annual Review of Entomology* 52, 81-106. https://doi.org/10.1146/annurev.ento.52.110405.091440.

Ebadollahi, A., Ashrafi-Parchin, R. & Farjaminezhad, M. (2016) Phytochemistry, toxicity and feeding inhibitory activity of *Melissa officinalis* L. essential oil against a cosmopolitan insect pest; *Tribolium castaneum* Herbst. *Toxin Reviews* 35, 77–82. https://doi.org/10.1080/15569543.2016.1199572.

Ebneabbasi, S., Mehrkhou, F. & Fourouzan, M. (2023). Lethal and sublethal effects of thiocyclam hydrogen oxalate and flubendimide on the population growth parameters and population projection of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal of Entomological Society of Iran* 43 (3): 219-231.

Fahim, M., Safaralizadeh, M. H. & Safavi, S. A. (2012) Evaluation of susceptibility of egg, nymph and adult of greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* (Hem. Aleyrodidae) to two plant essential oils (Spearmint and Cumin) under laboratory conditions. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production* 22(3), 28-35.

Filomeno, C. A., Barbosa, L. C. A., Teixeira, R. R., Pinheiro, A. L., Farias, E., Ferreira, J. S. & Picanco M. C. (2020) Chemical diversity of essential oils of Myrtaceae species and their insecticidal activity against *Rhyzopertha dominica*. *Crop Protection* 137, 105309. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105309.

Gerling, D. & Sinai, P. (1994)E Buprofezin effects on two parasitoid species of whitefly (Homoptera: Aleyrodidae). *Journal of Economic Entomology* 87(4), 842-846. https://doi.org/10.1093/jee/87.4.842.

Giunti, G., Palermo, D., Laudani, F., Algeri, G. M., Campolo, O. & Palmeri, V. (2019) Repellence and acute toxicity of a nano-emulsion of sweet orange essential oil toward two major stored grain insect pests. *Industrial Crops and Products* 142, 111869. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111869.

Gonzalez, J. O. W., Gutiérrez, M. M., Ferrero, A. A. & Band, B. F. (2014) Essential oils nano-formulations for stored-product pest control–characterization and biological properties. *Chemosphere* 100, 130-138. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.11.056.

Grafton-Cardwell, E. E., Godfrey, K. E. & Rogers, M. E. (2005) Citrus IPM: Integrated pest management for citrus. University of California Division of Agriculture and Natural Resources.

Guleria, G., Thakur, S., Shandilya, M., Sharma, S., Thakur, S. & Kalia, S. (2022) Nanotechnology for sustainable agro-food systems: The need and role of nanoparticles in protecting plants and improving crop productivity. *Plant Physiology and Biochemistry* 194, 533-549. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2022.12.004.

Heydarzadeh, A., Valizadegan, O., Negahban, M. & Mehrkhou, F. (2019). Efficacy of *Mentha spicata* and *Mentha pulegium* essential oil nanoformulation on mortality and physiology of *Tribolium castaneum* (Col.: Tenebrionidae). *Journal of Crop Protection* 8(4), 501-520. URL: http://jcp.modares.ac.ir/article-3-34193-en.html.

Horowitz, A. R., Kontsedalov, S. & Ishaaya, I, (2004) Dynamics of resistance to the neonicotinoids actamiprid and thiamethoxam in *Bemisia tabaci*. *Insecticides Resistance and Resistance Management* 97(6), 2051-2056. https://doi.org/10.1093/jee/97.6.2051.

Hu, L. X., Chi, H., Zhang, J., Zhou, Q. & Zhang, R. J. (2010) Life table analysis of the performance of *Nilaparvata lugens* (Hemiptera: Delphacidae) on two wild rice species. *Journal of Economic Entomology* 103, 1628-1635. https://doi.org/10.1603/EC10058.

Isman, M. B. (2020) Botanical insecticides in the twenty-first century—fulfilling their promise. *Annual Review of Entomology* 65, 233–249. https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011019-025010.

Isman, M., Miresmailli, S. & Machial, C. (2010) Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. *Phytochemistry Reviews* 10, 197-204. https://doi.org/10.1007/s11101-010-9170-4.

Isman, M. B. (2000) Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection* 19, 603–608. https://doi.org/10.1016/S0261-2194 (00)00079-X.

Iusucan, G., Kiuriumer, N., Kurkcuogylu, M., Basuer K. & Demiurciu, F. (2002) Antimicrobial screening of *Mentha piperita* essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 3943-3946. https://doi.org/10.1021/jf011476k.

Khoobdel, M., Ahsaei, S. M. & Farzaneh, M. (2017) Insecticidal activity of polycaprolactone nanocapsules loaded with Rosmarinus officinalis essential oil in *Tribolium castaneum* (Herbst). *Entomological Research* 47(3), 175-184. https://doi.org/10.1111/1748-5967.12212.

Kim, S. W., Kang, J. & Park, I. K. (2013) Fumigant toxicity of Apiaceae essential oils and their constituents against *Sitophilus oryzae* and their acetylcholinesterase inhibitory activity. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 16, 443–448. https://doi.org/10.1016/j.aspen.2013.07.002.

Kłyś, M., Izdebska, A. & Malejky-Kłusek, N. (2020) Repellent effect of the Caraway *Carum carvi* L. on the rice weevil *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera, Dryophthoridae). *Insects* 11, 836. https://doi.org/10.3390/insects11120836.

Kostic, M., Stankovic, S. & Kuzevski, J. (2015) Role of AChE in Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) resistance to carbamates and organophosphates. in S. Trdan, (ed.). Insecticides Resistance. pp. 19-40. InTech. https://doi.org/10.5772/61460.

Koul, O., Walia, S. & Dhaliwal, G. S. (2008) Essential oils as green pesticides: potential and constraints. *Biopesticides International* 4 (1), 63-84.

Kumar, P., Mishra, S., Malik, A. & Satya, S. (2011) Repellent, larvicidal and pupicidal properties of essential oils and their formulations against the housefly, *Musca domestica*, *Medical and Veterinary Entomology* 25, 302–310. https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2011.00945.x.

Lashgari, A., Mashayekhi, S., Javadzadeh, M. & Marzban, R. (2014) Effect of *Mentha piperita* and *Cuminum cyminum* essential oil on *Tribolium castaneum* and *Sitophilus oryzae*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 47 (3), 324-329. https://doi.org/10.1080/03235408.2013.809230.

Lashkari, M. R., Sahragard, A. & Ghadamyari, M. (2007) Sublethal effects of imidacloprid and pymetrozine on population growth parameters of cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae* on rapeseed, *Brassica napus* L. *Journal of Insect Science* 14, 207-212. https://doi.org/10.1111/j.1744-7917.2007.00145.x.

Lee, B. H., Lee S. E., Annis P. C., Pratt S. J., Park B. S. & Tumaalii, F. (2002) Fumigant toxicity of essential oils and monoterpenes against the red flour beetle, *Tribolium castaneum* Herbst. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 5(2), 237-240. https://doi.org/10.1016/S1226-8615(08)60158-2.

LeOra Software, (2002), Polo Plus, a user's guide to probit or logit analysis, LeOra Software, Berkeley, CA.

Lo Pinto, M., Leandro, V. & Agrò, A. (2020). Adulticidal activity of essential oils of *Mentha piperita* L., *Cupressus sempervirens* L., and *Eucalyptus globulus* Labill. against the tomato leafminer *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal of Entomology and Zoology Studies*, *8*(6), 1721-1728.

Mahmoodi, L., Mehrkhou, F., Guz, N., Forouzan, M. & Atlihan, R. (2020) Sublethal effects of three insecticides on fitness parameters and population projection of *Brevicoryne brassicae* (Hemiptera: Aphididae). *Journal of Economic Entomology* 113(6), 2713-2722. https://doi.org/10.1093/jee/toaa193.

Mareggiani, G., Picollo, M. I., Zerba, E., Burton, G., Tettamanzi, M. C., Benedetti Doctorovich, M. O. V. & Veleiro. A. S. (2000) Antifeedant activity of withanolides from *Salpichroa origanifolia* on *Musca domestica*. *Journal of Natural Products* 63, 1113-1116. https://doi.org/10.1021/np0001068.

McKay, D. L. & Blumberg, J. B. (2006) A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (Mentha piperita L.). *Phytothearapy Research* 20(8), 619-633. https://doi.org/10.1002/ptr.1936.

Nasseri, M., Golmohammadzadeh, S., Arouiee, H., Jaafari, M. R. & Neamati, H. (2016) Antifungal activity of *Zataria multiflora* essential oil-loaded solid lipid nanoparticles in-vitro condition. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences* 19(11), 1231-1237.

Nickavar, B. & Jabbareh, F. (2018) Analysis of the essential oil from *Mentha pulegiumand* identification of its antioxidant constituents, *Journal of Essential OilBearing Plants* 21, 223–229. https://doi.org/10.1080/0972060X.2018.1433073.

Oftadeh, M., Jalali Sendi, J. & Ebadollahi, A. (2020) Toxicity and deleterious effects of *Artemisia annua* essential oil extracts on mulberry pyralid (*Glyphodes pyloalis*). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 170, 104702. https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2020.104702.

Oftadeh, M., Sendi, J. J., Ebadollahi, A., Setzer, W. N. & Krutmuang, P. (2021) Mulberry protection through flowering-stage essential oil of *Artemisia annua* against the lesser mulberry pyralid, *Glyphodes pyloalis* Walker. *Foods* 10(2), 210. https://doi.org/10.3390/foods10020210.

Oftadeh, M., Jalali Sendi, J. & Ebadollahi, A. (2021) Biologically active toxin identified from *Artemisia annua* against lesser mulberry pyralid, *Glyphodes pyloalis*. *Toxin Reviews*, 40 (4), 953-961. https://doi.org/10.1080/15569543.2020.1811345.

Oliveira, C. R., Domingues, C. E., de Melo, N. F., Roat, T. C., Malaspina, O., Jones-Costa, M. & Fraceto, L. F. (2019) Nanopesticide based on botanical insecticide pyrethrum and its potential effects on honeybees. *Chemosphere* 236, 124282. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.07.013.

Pappas, M. L., Migkou, F. & Broufas, G. D. (2013) Incidence of resistance to neonicotinoid insecticides in greenhouse populations of the whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae) from Greece. *Applied Entomology and Zoology* 48(3), 373-378. https://doi.org/10.1007/s13355-013-0197-z

Patel, C., Srivastava, R. M. & Samraj, J. M. (2022) Comparative study of morphology and developmental biology of two agriculturally important whitefly species *Bemisia tabaci* (Asia II 5) and *Trialeurodes vaporariorum* from North-Western Himalayan region of India. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 65, e22210034. https://doi.org/10.1590/1678-4324-2022210034.

Pavela, R. (2005) Insecticidal activity of some essential oils against larvae of *Spodoptera littoralis, Fitoterapia* 76, 691-696. https://doi.org/10.1016/j.fitote.2005.06.001.

Pavela, R., Kaffková, K. & Kumšta, M. (2014) Chemical composition and larvicidal activity of essential oils from different Mentha L. and Pulegium species against *Culex* quinquefasciatus say (Diptera: culicidae). *Plant Protection Science* 50, 36–42. https://doi.org/10.17221/48/2013-PPS.

Rajendran, S. & Sriranjini, V. (2008) Plant products as fumigants for stored-product insect control. *Journal of Stored products Research* 44, 126–135. https://doi.org/10.1016/j.jspr.2007.08.003.

Rajkumar, V., Gunasekaran, C., Christy, I. K., Dharmaraj, J., Chinnaraj, P. & Paul C. A. (2019) Toxicity, antifeedant and biochemical efficacy of *Mentha piperita* L. essential oil and their major constituents against stored grain pest. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 156, 138–144. https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.02.016.

Rajkumar, V., Gunasekaran, C., Dharmaraj, J., Chinnaraj, P., Paul C. A. & Kanithachristy, I. (2020) Structural characterization of chitosan nanoparticle loaded with Piper nigrum essential oil for biological efficacy against the stored grain pest control, *Pesticide Biochemistry and Physiology* 166, 104566. https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2020.104566.

Ramzi, A., El Ouali Lalami, A., Ez zoubi, Y., Assouguem, A., Almeer, R., Najda, A., Ullah, R., Ercisli, S. & Farah, A. (2022) Insecticidal effect of wild-grown *Mentha pulegium* and *Rosmarinus officinalis* essential oils and their main monoterpenes against *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *Plants 11*(9), 1193. https://doi.org/10.3390/plants11091193.

Rahmani-Aghdam, E., Mehrkhou, F. & Forouzan, M. (2022). Sublethal effects of herbal insecticides, Azadirachtin and Palizin, on the life history, survival rate and life expectency of *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae). Iran. 24th Iranian Plant Protection Congress. 3-6 September. Tehran. p.46.

Reshadat-Salvanagh, N., Mehrkhou, F. & Forouzan, M. (2022) Sublethal effects of Flonicamid and Bino2 on the biological properties and life table parameters of *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae). Iran. 24th Iranian Plant Protection Congress. 3-6 September. Tehran. p.44.

Reshadat-Salvanagh, N. (2021) Survey on the sublethal effects of Flonicamid and Bino2 on the population growth prameters of *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae).MSc thesis. Urmia University.

Saeedi, M. R. (2022) Survey on the lethal and sublethal effects of Tondexir and Salpipest on the population growth prameters of *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae). MSc thesis. Urmia University.

Saeidi, K. & Mirfakhraie, S. (2017) Trials on the timing of chemical control of lentil weevil, *Bruchus lentis* Frölich (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) in lentil lield in Gachsaran region (Iran). *Journal of Entomological and Acarological Research* 49 (3), 234-252. https://doi.org/10.4081/jear.2017.6829.

Salem, N., Bachrouch, O., Sriti, J., Msaada, K., Khammassi, S., Hammami, M., Selmi, S., Boushih, E., Koorani, S., Abderraba, M., Marzouk, B., Limam, F. & Mediouni Ben Jemaa, J. (2017) Fumigant and repellent potentials of *Ricinus communis* and *Mentha pulegium* essential oils against *Tribolium castaneum* and *Lasioderma serricorne*. *International Journal of Food Properties* 20, S2899–S2913. https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1382508.

Sampson, B., Tabanca, N., Kirimer, N. & Demirci, B. (2005) Insecticidal activity of 23 essential oils and their major compounds against adult *Lipaphis pseudobrassicae* (Davis) (Aphididae: Homoptera). *Pest Management Science* 61, 1122–1128. https://doi.org/10.1002/ps.1100.

Sasson, Y., Levy-Ruso, G., Toledano, O. & Ishaaya, I. (2007) Nanosuspensions: emerging novel agrochemical formulations. in insecticides design using advanced technologies.pp. 1-39. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.

Shekari, M., Jalali Sendi, J., Etebari, K., Zibaee, A. & Shadparvar, A. (2008) Effects of *Artemisia annua* L. (Asteracea) on nutritional physiology and enzyme activities of elm leaf beetle, *Xanthogaleruca luteola* Mull. (Coleoptera: Chrysomellidae), *Pesticide Biochemistry and Physiology* 91, 66–74. https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2008.01.003.

Sogan, N., Kala, S., Kapoor, N., Singh, H., Verma, P., Nautiyal, A. & Nagpal, B. N. (2023) Utilization and re-use of orange peel derived oil by formulating nanoemulsion for efficient vector control application. *Waste and Biomass Valorization* 14, 3415–3427. https://doi.org/10.1007/s12649-023-02094-8.

Sohrabi, F., Shishehbor, P., Saber, M. & Mosaddegh, M. S. (2011) Lethal and sublethal effects of buprofezin and imidacloprid on *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Crop Protection* 30 (9), 1190-1195. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2011.05.004.

Stankovic, S. & Kostic, M. (2017) Role of carboxylesterases (ALiE) regarding resistance to insecticides: Case study of Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say). in V. Shields (ed.). *Insect Physiology and Ecology.* pp. 159–178. Rijeka, Croatia, InTech. https://doi.org/10.5772/66254.

Studebaker, E. & Kring, T. J. (2001) Lethal and sublethal effects of early season insecticides on insidious flower bug, (Orius insidiosus); AAES research series 497. Available from:http://arkansasagnews.uark.edu/497-45.pdf/ (accessed 15 December 2007).

Tarigan, S. I., Dadang, D. & Harahap, I. (2016) Toxicological and physiological effects of essential oils against *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Biopesticides* 9(2), 135-147. https://doi.org/10.57182/jbiopestic.9.2.135-147.

Thonggooma, O., Punrattanasin, N., Srisawang, N., Promawan, N. & Thonggoom, R. (2016) In vitrocontrolled release of clove essential oil in self-assembly of amphiphilic polyethylene glycol-block-polycaprolactone. *Journal of Microencapsulation* 1-9. https://doi.org/10.3109/02652048.2016.1156173.

Tripathi, A. K., Prajapati, V., Aggarwal, K. K. & Khanuja, S. P. S. (2000) Repellancy and toxicity of oils from *Artemisia annua* to certain stored product Beetles. *Journal of Economic Entomology* 93(1), 43-47. https://doi.org/10.1603/0022-0493-93.1.43.

Tyagi, A. K. & Malik, A. (2011) Antimicrobial potential and chemical composition of *Mentha piperita* oil in liquid and vapour phase against food spoiling microorganisms. *Food Control* 22(11), 1707-1714. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.04.002.

Zamani, S., Jalali Sendi, J. & Ghadamyari, M. (2010) Effect of *Artemisia annua* L. (Asterales: Asteracea) essential oil on mortality, development, reproduction and energy reserves of *Plodia interpunctella* (Hubner) (Lep.: Pyralidae). *Journal of Fertilizers and Biopesticides* 2(1), 105. http: //doi.org/10.4172/2155-6202.1000105.

Lethal and sublethal effects of *Mentha piperita* L. and its nanoeformulation form on the biological and population growth parameters of *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) under laboratory conditions

Mohammad Sharifiyan[1], Fariba Mehrkhou[1] & Maryam Negahban[2]

1- Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

✉ m.sharifian13@yahoo.com *https://orcid.org/0009-0002-6044-9881*
✉ f.mehrkhou@urmia.ac.ir *https://orcid.org/0000-0023-4220-8396*

2- Iranian Research Institute of Plant Protection (IRIPP), Tehran, Iran

✉ m.negahban2009@gmail.com *https://orcid.org/0000-0002-6602-9936*

Article History

Received: 9 October 2023 | *Accepted:* 8 January 2023 | *Subject Editor:* Masumeh Ziaee

Abstract

The greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* Westwood, is one of the most destructive greenhouse pests in the world. In this study, the lethal and sublethal effects of *Mentha piperita* L. essential oil and its nanoformulation were investigated on the *T. vaporariorum* by considering the biological and population growth parameters. Extraction of essential oil was done by steam distillation using clevenger, and the chemical components of *M. piperita* were evaluated by gas chromatography-mass spectrometry. The results showed that monoterpenoids including carvone (%57.13) and limonene (%26.90) were the main characterized components of pipermint essential oil. The characterization of nanoformulation was done using dynamic light scattering (DLS), transmission electron microscopy (TEM), and scanning electron microscopy (SEM). The results showed that the nanoemolsion was spherical in shape with the average sizes of 179.74 nm. The leaf dipping was used for the bioassays. The bioassay results showed that, the nanoformulation of eesential oil (LC_{50}: 3375.411 ppm) was more toxic than the pipermint (LC_{50}: 4536.118 ppm) on the *T. vaporariorum* adults. The life table data were analyzed based on the age-stage, two-sex life table theory. Also, the sublethal concentration (LC_{25}) of pipermint nanoformulation affected life table parameters of *T. vaporariorum* by prolonging the developmental time of *T. vaporariorum,* decreasing the female longevity and fecundity compared with essential oil. Also, the population growth parameters such as intrinsic rate of increase and finite rate of increase treated by nanoemolsion of essential oil (0.076±0.006 day $^{-1}$) and (1.079±0.007 day $^{-1}$) were lower than the essential oil (0.084±0.006 day $^{-1}$) and (1.087±0.006 day $^{-1}$), significantly. The total results showed that pipermint's nanoformulation has the most lethal and sublethal effects on greenhouse whitefly compared with the pured form of essential oil which can be consider in integrated pest management program (IPM) of this pest.

Keywords: Bioassay, toxicology, demography, botanical insecticides, formulation

Corresponding Author: Fariba Mehrkhou (Email: f.mehrkhou@urmia.ac.ir)

Citation: Sharifiyan, M., Mehrkhou, F. & Negahban, M. (2024) Lethal and sublethal effects of *Mentha piperita* L. and its nanoeformulation form on the biological and population growth parameters of *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) under laboratory conditions. *J. Entomol. Soc. Iran*, 44 (1), 25–41. https://doi.org.10.61186/jesi.44.1.3