التقييم الحيوي لمستخلص الفلفل الاسود و اليوكالبتوس و الفاعلية التأزرية مع بوليمر الكايتوسان ضد يرقات و بالغات خنفساء اللوبيا الجنوبية Callosobruchus maculatus (Fabricius) تحت ظروف المختبر .

اقبال زهو عبد كشمرو مشتاق طالب محمد علي
كلية الزراعة، جامعة كربلاء
Orcid.org/0000-0002-8724-2189
iqbal.z@s.uokerbala.edu.iq

ISSN (Paper) 1994-697X
Online 2706 -722X
https://doi.org/10.54633/2333-022-047-002

المستخلص

اجريت هذه الدراسة لتقييم فاعلية زيوت مستخلصي ثمار الفلفل الاسود Pipper nigrum و اوراق اليوكالبتوس Eucalyptus camaldulensis و الفاعلية التازرية لبوليمر الكايتوسان مع المستخلصات النباتية في مقاومة يرقات و بالغات خنفساء اللوبيا الجنوبية Callosobruchus maculatus تحت ظروف المختبر. اوضحت نتائج دراسة المستخلصات النباتية كفاءة مستخلص زيوت ثمار الفلفل الاسود في احداث اعلى معدلات نسب الهلاك للحشرات البالغة عند التركيز 3 مل / لتر محققا 75.00 % مقارنة بمعاملة مستخلص اليوكالبتوس والذي حقق معدل نسبة هلاك بلغت63.61 % بعد 7 ايام من المعاملة . كما حقق نفس التركيز اعلى معدلات الهلاك للطور اليرقي و بنسب بلغت 82.22 و 68.33 % على التوالي . اظهرت نتائج التقييم الحيوي للفاعلية التازرية لمستخلصات النباتية مع بوليمر الكايتوسان ضد الطور البالغ للحشرة تفوق مستخلص الفلفل الاسود + بوليمر الكايتوسان عند التركيز 2 مل + 1 مل على التوالي في احداث اعلى نسب هلاك محققا معدل بلغ 80.00 % مقارنة بمستخلص اليوكالبتوس + بوليمر الكايتوسان الذي حقق معدل بلغ 71.66 % .

كلمات مفتاحية : keywords Callosobruchus maculatus ، مستخلصات نباتية ، الفلفل الاسود ، اليوكالبتوس ، الكايتوسان .

المقدمة Introduction

اللوبيا Vigna sneninsis Savi من محاصيل البقول المهمة في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية من العالم خاصة في المناطق حيث استهلاك البروتين الحيواني قليل بسبب احتوائه على نسبة عالية من البروتين ويُعتقد أن منشأها من إفريقيا والآن يتم زراعتها واستهلاكها على نطاق واسع في جميع أنحاء العالم خاصة، تعد إفريقيا وأمريكا اللاتينية وجنوب شرق آسيا أعلى مستهلك (Abokersh,2015 و Barakat) تحتوي البذور الجافة على 25–30% بروتين، وتشير المصادر إلى أن 70% من البروتين المستهلك عالميا هو من مصادر نباتية (Sekgobela,2019)

.قدرت المساحة المزروعة في العراق لعام 2021 حوالي 29000 دونم و قدر الانتاج المحلي 197000 طن (Central 2021 statistical organization).

الاصابة بالآفات الحشرية من العقبات الرئيسية التي تشكل خطرا على انتاج البقوليات مسببة ضرراً كبيراً في الحقل والمخزن (CABI، 2017) ، تعد خنفساء اللوبيا الجنوبية Callosobruchus maculatus من أكثر الآفات تدميراً والتي تسبب خسائر جسيمة لبذور اللوبيا أثناء عملية التخزين (Thandar. 2021)، حيث ان الحشرة ذات مدى عائلي واسع و تهاجم الكثير من البقوليات ويمكن أن تسبب هذه الخنفساء الدمار الكامل للبذور أو الحبوب المخزونة إذا تركت دون وقاية لمدة 3–4 أشهر مما يجعلها غير صالحة لأغراض الزراعة أو الاستهلاك البشري (Singh ,1985 وjackai) بدأ الباحثون بالبحث عن مواد طبيعية تمتلك العديد من المركبات البيولوجية النشطة التي تمتاز بفاعليتها العالية في مكافحة الآفات الحشرية المختلفة و حماية الحبوب المخزونة من الإصابة وليس لها مخاطر صحية على الإنسان والبيئة ، ومنها استعمال النباتات مركباتها الايضية الثانوية كالزيوت العطرية و القلويدات وغيرها في مكافحة حشرات المخازن (Alvi ,2018) .

نظراً للأهمية الاقتصادية لحشرة خنفساء اللوبيا الجنوبية وبهدف أيجاد مركبات طبيعية أكثر أماناً للإنسان والبيئة لاستعمالها في مكافحة الحشرة لذا هدف البحث الى التقييم الحيوي لكفاءة الزيوت النباتية المستخلصة من ثمار الفلفل الحار و واوراق اليوكالبتوس على يرقات و بالغات خنفساء اللوبيا الجنوبية دراسة مدى التوافق والفعالية بين البوليمر الطبيعي الكيتوسان والمستخلص النباتي في مقاومة الافة .

المواد و طرائق العمل Material and Method

تربية الحشرة في المختبر

تم تهيئة المستعمرة الحشرية مختبريا بوضع حبوب اللوبيا المصابة الحاصل عليها من مختبر الحشرات من كلية العلوم للبنات جامعة بابل .تم تشخيص الحشرة من قبل الاستاذ المساعد الدكتور سيناء عبد مسلم كلية الزراعة جامعة كربلاء . تم تربية بالغات خنفساء اللوبيا الجنوبية بنقل 30 حشرة (15ذكور و 15 اناث) الى قناني زجاجية سعة 600مل ووضعت فيها بذور اللوبيا المعرضة لدرجة حرارة منخفضة في المجمدة لمدة 72 ساعة لغرض ضمان خلوها من الاصابة ، غطيت فوهة القناني الزجاجية بقماش ململ واحكم سدها بواسطة احزمة مطاطية ثم وضعت في الحاضنة بدرجة حرارة 30±2°م ورطوبة نسبية 70±5 (Bellows, 1982) . تم متابعة دورة حياه الحشرة من خلال البيوض الموضوعة على بذور اللوبيا وصولا الى المرحلة الكاملة اذ تم ادامة المستعمرة لثلاثة اجيال قبل اجراء التجارب عليها .

العينات النباتية والاستخلاص :

جمعت العينات النباتية المر اد استخلاصها ثمار نبات الفلفل الاسود Piper nigrum من الاسواق المحلية و اوراق اليوكالبتوس Eucalyptus camaldulensis من الحدائق العامة في محافظة كربلاء .نظفت العينات النباتية جيداً من الاتربة العالقة بها ونشرت في غرفة ذات تهوية جيدة على درجة حرارة الغرفة مع مراعاة تقليبها باستمرار لمنع تعفنها وبعد جفافها بشكل تام طحنت بطاحونة كهربائية من نوع Pharmaceutical Mill قياس منخلهـــا 30– 40 مش ووضعت في أكياس نايلون وعلمت بتدوين المعلومات ثم حفظت لحين عملية الاستخلاص.

أجريت عملية الاستخلاص من خلال وزن 50 غم من المسحوق الجاف لثمار الفلفل الاسود واوراق اليوكالبتوس ،وضعت المساحيق في اوعية الاستخلاص Thumble في جهاز الاستخلاص المستمر Soxhlet extractor باستخدام 250 مل من

مذيب الهكسان الغير قطبي ، جرى الاستخلاص بدرجة حرارة 40 م° لمدة 24 ساعة و ركزت العينات باستعمال جهاز المبخر الدوار Rotary evaporator بدرجة حرارة 24 م وسرعة دوران 150 دورة / دقيقة لحين الحصول على الزيوت الاساسية Essential oils (Harborne, 1981) , حفظت المستخلصات في الثلاجة لحين اجراء التقييم الحيوي .

بوليمر الكيتوسان

تم الحصول على بوليمير الكيتوسان من المنتج Kitoplus من شركة KIMIASABZAVAR و استخدم حسب التركيز الموصى به 1–2 مل / لتر ماء .

التقييم الحيوي لمستخلص الفلفل الاسود و اليوكالبتوس و بوليمر الكيتوسان في نسب هلاك يرقات وبالغات خنفساء اللوبيا الجنوبية

تم تحضير ثلاثة تراكيز مختلفة من مستخلص اوراق اليوكالبتوس ومستخلص ثمار الفلفل الاسود وهي 1.5 ، 2 و 2.5 غم / لترماء ، و تركيزان 1 و 2 مل / لتر ماء من بوليمر الكيتوسان ، اخذ 30 غم من بذور اللوبيا النظيفة بعد التأكد من خلوها من الاصابات الحشرية من خلال وضعها في مجمدة تحت درجة حرارة –20 , رشت اللوبيا بالتراكيز المحضرة اعلاه بواسطة مرشة يدوية سعة 100 مل وتركت اللوبيا تجف على ورق ترشيح لمدة 5 دقائق ثم وضعت في عبوات سعة 150 مل ثم تم نقل 10 يرقات و بالغات من خنفساء اللوبيا الجنوبية لكل معاملة وغطيت بقماش من الململ وربطت بحزام مطاطي, بالإضافة الى معاملة المقارنة التي رشت بالماء فقط , ثم نقلت لها 10 من بالغات خنفساء اللوبيا الجنوبية ، ثم نقلت الاطباق الى الحاضنة بدرجة حرارة 30± 1 مْ ورطوبة بنسبة 60±5%. سجلت النسب المئوية للهلاك بعد (1, 3, 5 و 7) يوم من المعاملة تم حساب النسب المئوية المصححة للهلاك ومن ثم النسبة المئوية المصححة حسب معادلة Abbot (1925) .

$$\%\text{الهلاك المصححة} = \frac{\%\text{ للهلاك في المعاملة} - \%\text{ للهلاك في معاملة السيطرة}}{\%\text{ للهلاك في معاملة السيطرة}} \times 100\%$$

حللت النتائج باستعمال التصميم العشوائي الكامل(Completely Randomized Design (CRD ،وتم استعمال اختبار اقل فرق معنوي مستوى احتمال 1% لاختبار الفروق بين المعاملات(Khalaf Allah and Al rawei, 2000).

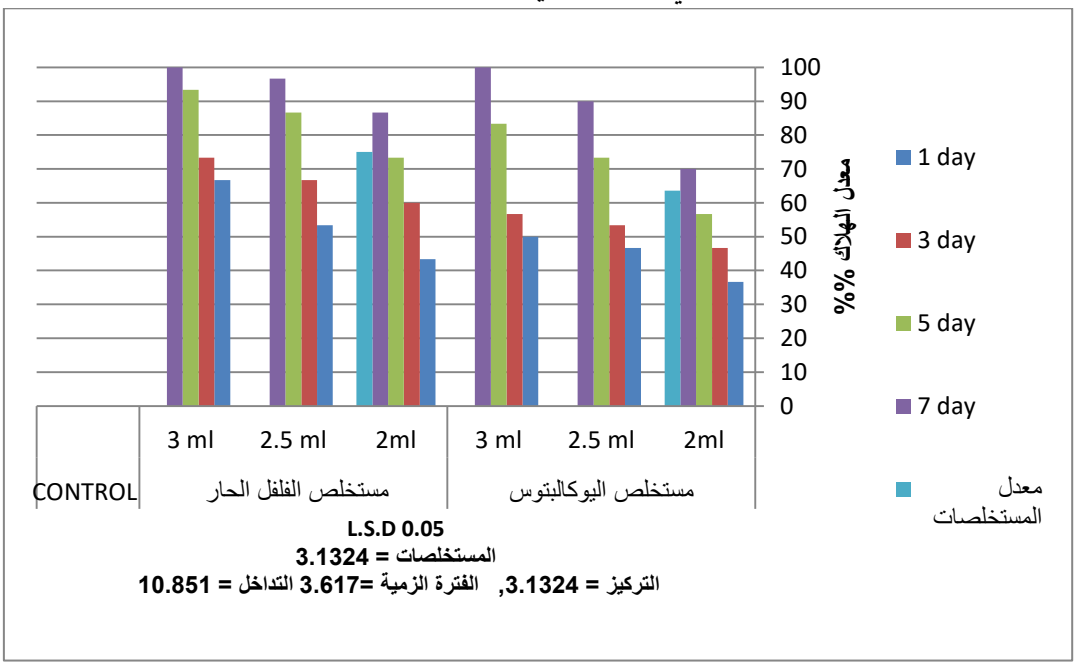
النتائج و المناقشة Results and Discussion

اوضحت نتائج دراسة المستخلصات النباتية Essential oils لثمار الفلفل الاسود و اوراق اليوكالبتوس ضد بالغات خنفساء اللوبيا الجنوبية شكل (1) كفاءة مستخلص ثمار الفلفل الاسود و بفروق معنوية في احداث اعلى معدلات الهلاك و بمعدل بلغ 75 % مقارنة بمستخلص اوراق نبات اليوكالبتوس الذي حقق معدل 63.61 % . كما اشارت النتائج ان التركيز 2.5 مل / لتر لمستخلص الفلفل تفوق و بفروق معنوية على مستخلص اليوكالبتوس في احداث اعلى معدلات الهلاك بعد 5 ايام من المعاملة محققا 93.33 و 83.33 % على التوالي ، وكان التركيز 3 مل / لتر لكلا المستخلصين الاعلى تحقيقا لنسب معدلات الهلاك مسجلا 100 % بعد 7 ايام من المعاملة . كما اوضحت نتائج دراسة المستخلصات النباتية ضد يرقات خنفساء اللوبيا الجنوبية شكل (2) كفاءة مستخلص ثمار الفلفل الاسود في احداث اعلى معدلات الهلاك وبفروق معنوية ، حيث حقق معدل نسب هلاك 82.22 % مقارنة بمستخلص اوراق نبات اليوكالبتوس الذي حقق معدل 68.33 % . تفوق التركيز 2.5 مل / لتر لمستخلص

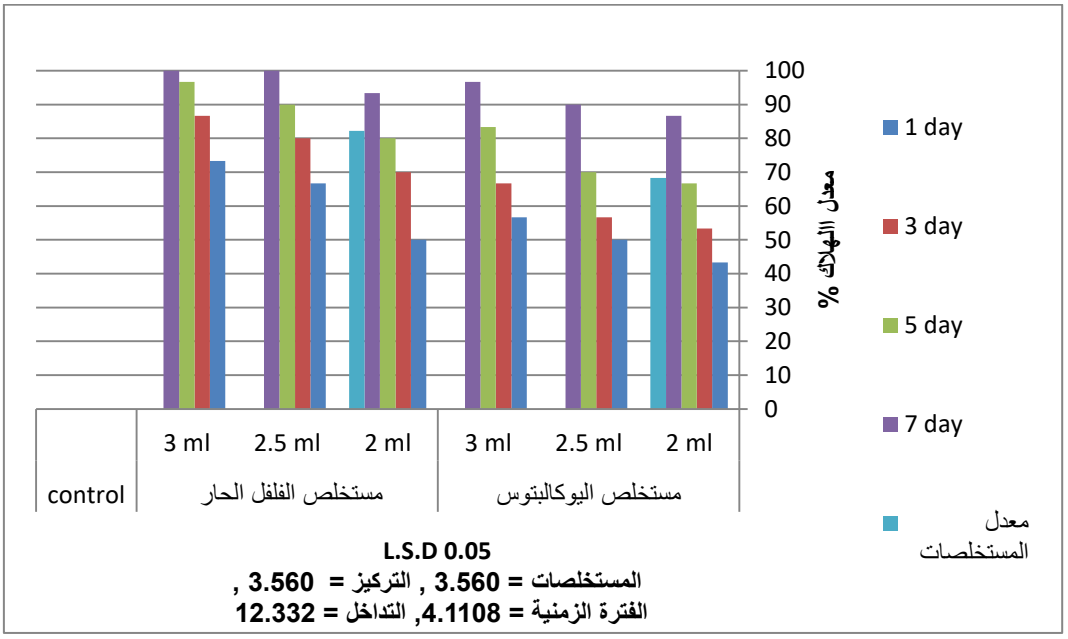
www.misan-jas.com
ISSN (Paper)-1994-697X (Online)-2706-722X

الفلفل الاسود على مستخلص اليوكالبتوس بعد 5 ايام من المعاملة محققا نسبة هلاك بلغت 96.66 و 83.33 % على التوالي ، وكان التركيز 3 مل / لتر لكلا المستخلصين الاعلى تحقيقا لنسب الهلاك حيث سجل 100 % بعد 7 ايام من المعاملة .

شكل 1. تأثير المستخلصات النباتية في النسبة المئوية لهلاك يرقات خنافس C. maculatus



شكل 2. تأثير المستخلصات النباتية في النسبة المئوية لهلاك يرقات خنافس C. maculatus



تعزي فاعلية الفلفل الاسود إلى احتوائه على مركبات الايض الثانوية Secondary Metabolite Substances ومنها مادة Piperine , حيث وجد Quraishi (2001) أن المستخلص الهكساني لبذور نبات الفلفل الأسود حقق نسبة قتل بلغت 89.5% ضد يرقات حلمة الشليك Tetranychus turkustani عند التركيز 1000 ملغم / لتر .

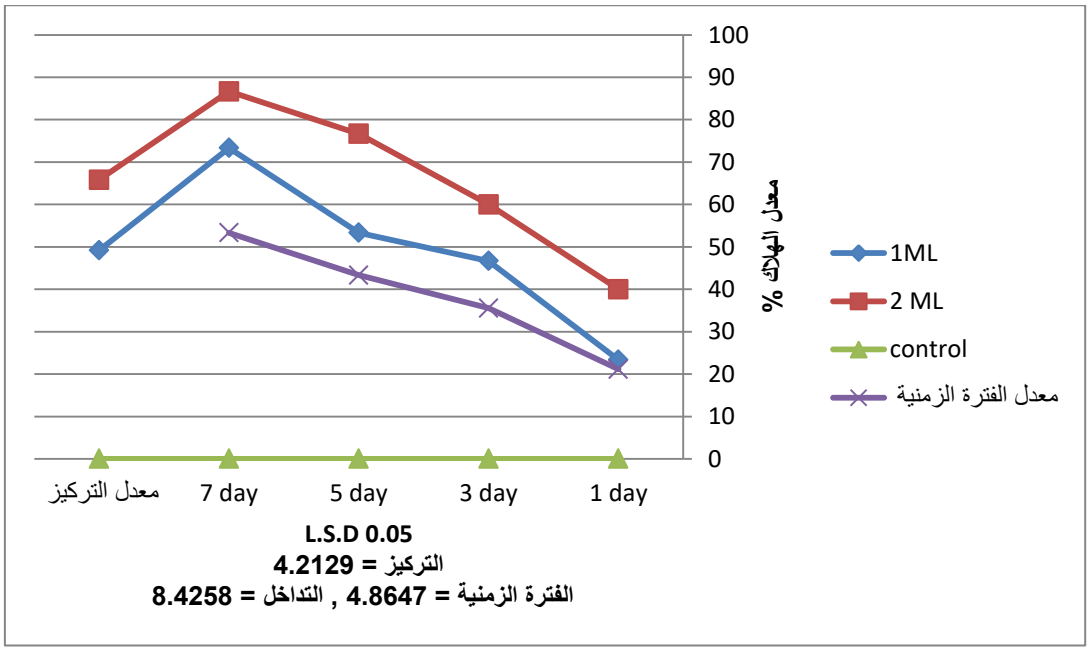
ISSN (Paper)-1994-697X (Online)-2706-722X

يعود تأثير المبيدات الى احتوائها على زيوت طيارة فعالة ومركبات لها قابلية على النفاذ والانتشار ما بين انسجة جسم الحشرة بطريقة تشبه عمل المبيدات او تعمل عن طريق الملامسة لسطح الجسم للحشرة اذ تخترق المركبات الكيميائية كيوتكل الحشرة خلال المناطق الرقيقة الموجودة في جسمها فتسبب لها الشلل ثم الموت (Afefy, 2002). تحتوي المبيدات نباتية الاصل على مواد سامة ومركبات قلوية او مركبات فعالة لها تأثير يعمل على منع حدوث التغذية ومن ثم تموت الحشرات, كما تدخل المبيدات ذات الأصل النباتي عن طريق الفتحات التنفسية وبذلك تؤثر على الجهاز العصبي والهضمي (Romeilah،2010). بين (Salehi2019) ان ثمار الفلفل الاسود تحتوي على Piperine I وPiperine II اضافة الى المركبات القلويدية . اوضح (Vallavan،2020) في دراسة قام بها حول التركيب الكيميائي لـ Essential oil لثمار الفلفل الاسود Piper nigrum عن احتوائه على المركبات (1-Methyl-2-(1- Carene , α -Phellandrene ,β -Myrcene , β-Pinene , α-Pinene methylethenyl)-benzene ,D-Limonene ,Terpinolene , Piperitone , Piperonal , Eugenol , β - Elemene . , β –Caryophyllene

التقييم الحيوي لبوليمر الكايتوسان النانوي في نسب هلاك بالغات ويرقات خنفساء اللوبيا الجنوبية C. maculatus .

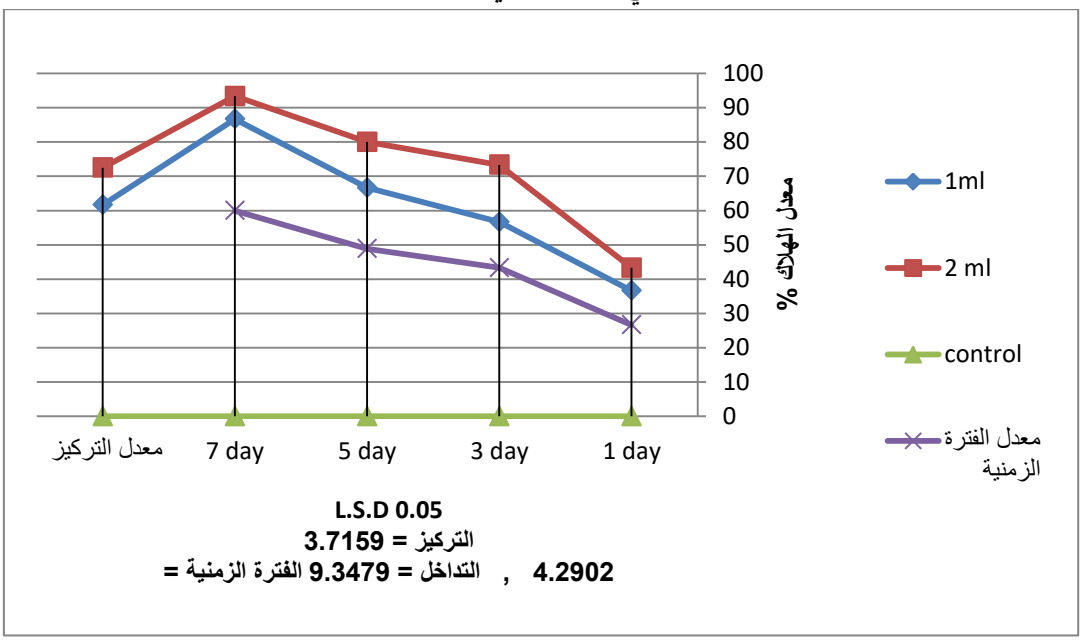
اوضحت نتائج دراسة تأثير تراكيز بوليمر الكايتوسان على البالغات شكل (3) وجود فروق معنوية بين التراكيز المستخدمة في الدراسة ، حيث تفوق تركيز 2 مل / لتر في تحقيق اعلى نسب هلاك البالغات بمعدل بلغ 65.83 % متفوقا على التركيز 1 مل / لتر الذي حقق معدل نسب هلاك بلغ 49.16 . كما بينت نتائج دراسة تأثير تراكيز بوليمر الكايتوسان على الطور اليرقي شكل (4) تفوق تركيز 2 مل / لتر في تسجيل اعلى معدل نسب هلاك البالغات وبفروق معنوية محققا معدل بلغ 72.50 % مقارنة بتركيز 1 مل / لتر حيث بلغ معدل 61.66 % .

شكل 3. تأثير بوليمر الكايتوسان في النسبة المئوية لهلاك بالغات خنافس Callosobruchus maculatus



ISSN (Paper)-1994-697X (Online)-2706-722X

شكل 4. تأثير بوليمر الكايتوسان في النسبة المئوية لهلاك يرقات خنافس C. maculatus



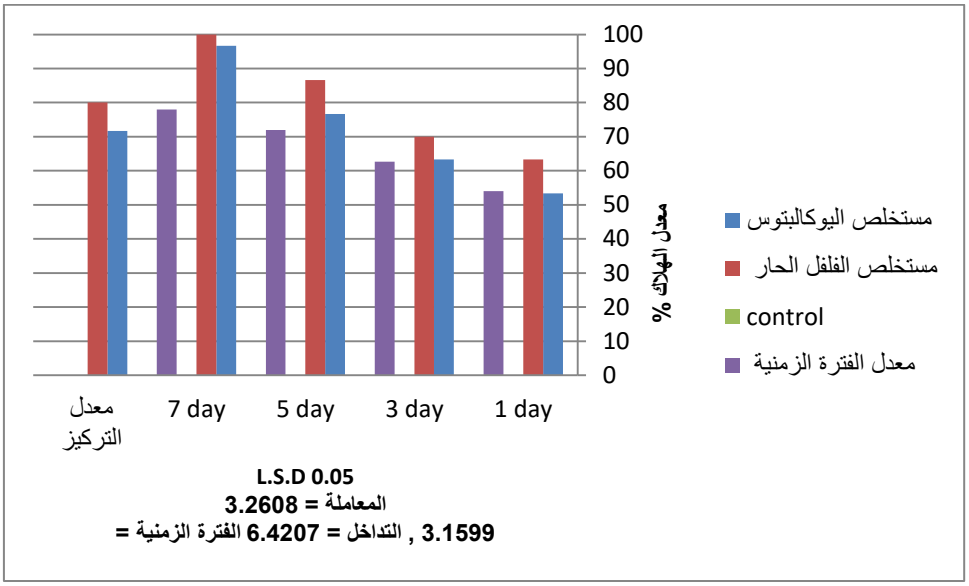
أكد (Kango,2013) أن البوليمرات التي تنتجها المصادر الطبيعية مثل الكايتوسان صديقة للبيئة وقابلة للتحلل الحيوي ولا تنتج أي منها منتجات ثانوية ضارة للبيئة والانسان كما أنها منخفضة التكلفة نسبيًا وقد ثبت أنها مناسبة كمواد تغليف للمكونات النشطة .يستعمل الكايتوسان كناقل نانوي nanocarrier في ضوء اتحاد المبيد أو المادة الكيمياوية مع الكايتوسان عبر أواصر أيونية أو تساهمية أو تغليف تلك المواد بمصفوفات من الكايتوسان بسبب خاصية التغليف التي يمتاز بها وهي ذات بنية متجانسة ومستقرة (Kashyap, 2015)

التقييم الحيوي التازري لبوليمر الكايتوسان (1 مل / لتر) مع المستخلصات النباتية (2 مل / لتر) في نسب هلاك بالغات ويرقات خنفساء اللوبيا الجنوبية C. maculatus .

اوضحت نتائج دراسة التأثير التازري بين تركيز 1 مل / لتر بوليمر الكايتوسان مع 2 مل / لتر لكل من المستخلصات النباتية لثمار الفلفل الاسود واوراق اليوكالبتوس ضد بالغات خنفساء اللوبياء الجنوبية تفوق مستخلص الفلفل الاسود + بوليمر الكايتوسان في احداث اعلى نسب هلاك محققا معدل بلغ 80.00 % مقارنة بمستخلص اليوكالبتوس + بوليمر الكايتوسان الذي حقق معدل بلغ 71.66 % . كما اوضحت نتائج شكل (5) استمرار تفوق مستخلص الفلفل الاسود + بوليمر الكايتوسان ضد الطور اليرقي عند نفس التركيز و بفروق معنوية عن مستخلص اوراق اليوكالبتوس + بوليمر الكايتوسان محققا معدل نسب هلاك بلغت 85.00 % ، 77.50 % على التوالي .

ISSN (Paper)-1994-697X (Online)-2706-722X

شكل 5 . تأثير التازري بين المستخلصات مع بوليمر الكايتوسان 1 مل/لتر في النسبة المئوية لهلاك بالغات خنافس C. maculatus .



أشار (Campos, 2018)) الى دور الكايتوسان المغلف للمركبات الفينولية Carvacrol و Linalool في السيطرة على حشرة Helicoverpa armigera حيث بينت نتائج الدراسة أن نسبة القتل لليرقات المعاملة بالمركبات الفينولية بلغت 78 % في حين بلغت نسبة القتل 86% عند تغليف المركبات الفينولية بالكايتوسان مقارنة بمعاملة المقارنة التي سجلت نسبة قتل بلغت 8% و لوحظ أن الكايتوسان لديه خصائص غروية جيدة وكفاءة تغليف عالية لكل Carvacrol و Linalool وأثبتت ان لها فعالية في السيطرة على الحشرة.

أوضح (Rajkumar،2020) أن استعمال زيت النعناع المغلف بجزيئات الكايتوسان ا بطريقة التعريض المباشر ولمدة 14 ساعة ضد سوسة الحبوب Sitophilus oryzae وخنفساء الطحين الحمراء Tribolium castaneum أدى الى حصول تغيرات كيميائية في نشاط إنزيم Acetyl cholinesterase لكلا الحشرتين حيث تراوحت نسبة تثبيط الأنزيم في حشرة سوسة الحبوب من 37.71. – 52.43 % وفي حشرة خنفساء الطحين الحمراء من 31.37 – 37.80 % .

الاستنتاج Conclusions

بينت الدراسة كفاءة استخدام المستخلصات النباتية خصوصا زيت الفلفل الاسود مقارنة بزيت اليوكالبتوس في هلاك يرقات وبالغات خنفساء اللوبيا الجنوبية وزادت نسبة الهلاك عند المعاملة التازرية للمستخلصات مع الكايتوسان , حيث ان الكايتوسان زاد من فعالية المستخلصات النباتية على هلاك يرقات وبالغات خنفساء اللوبيا الجنوبية .

Biological evaluation of Black pepper and Eucalyptus extracts and their synergistic activity with chitosan polymer against larvae and adults of southern cowpea beetle Callosobruchus maculatus (Fabricius) under laboratory condition

Iqbal Zhou Abd Kashmar[1] Mushtak Talib Mohammadali[2]
[1]College of Agriculture , Kerbala university
Orcid.org/0000-0002-8724-218
iqbal.z@s.uokerbala.edu.iq

ISSN (Paper)-1994-697X (Online)-2706-722X

Abstract

The aim of the study was to evaluate the efficiency of plant extracts from oils of black pepper fruits Piper nigrum and Eucalyptus camaldulensis and the synergistic activity of chitosan polymers with plant extracts against larvae and adults of the southern cowpea beetle, Callosobruchus maculatus, under laboratory conditions. The results show that the essential oil extract of black pepper fruits causes the highest rates of mortality for adult insects at a concentration of 3 ml per liter, achieving a mortality rate of 75.00% compared to the treatment with eucalyptus extract, which achieved a mortality rate of 63.61% after 7 days of treatment. The same concentration achieved the highest mortality rates for the larval stage, with percentages of 82.22 and 68.33%, respectively. The results of the bio evaluation of the synergistic activity of plant extracts with chitosan polymer against the adult showed superiority of black pepper extract + chitosan polymer at a concentration of 2 ml + 1 ml, respectively, in causing the highest mortality rates, achieving an average of 80.00%, compared to eucalyptus extract + chitosan polymer, which achieved 71.66%.

Keywords: Callosobruchus maculatus, plant extract, black pepper, Eucalyptus, chitosan.

References المصادر

Abbott,W.S.(1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. Journal of Economic Entomology,18(2),265-267.
https://academic.oup.com/jee/article/18/2/265/785683

Abokersh, M. O. and Barakat, E. M. (2015). Physicochemical Properties (Coleoptera: Bruchidae). Journal of marine sciences and environmental. http://www.asmarya.edu.ly/journal/wp-content/uploads/2016/10/JMSET08-1-2-2015.pdf

Afefy; Fathi Abdel Aziz, (2002). Plant extracts and biological efficacy. Library of Religious Culture. The Egyptian Arabic Republic.https://www.neelwafurat.com/itempage.aspx?id=egb26584-5026613&search=books

Al rawei , Khasha'a Mahmoud and Khalaf Allah, Abdel-Aziz Mohamed (2000). Design and analysis of agricultural experiments. Second edition. Ministry of Higher Education and Scientific Research. Dar Al-Kutub for printing and publishing. University of Mosul, second edition. 488 pages.

Alvi, A. M.; Iqbal, N.; Bashir, M. A.; Rehmani, M. I. A.; Ullah, Z.; Latif, A. and Saeed, Q. (2018). Efficacy of Rhazya stricta leaf and seed extracts against Rhyzopertha dominica and Trogoderma granarium. Kuwait Journal of Science. 45(3): 64 -71. https://journalskuwait.org/kjs/index.php/KJS/article/view/2788

Bellows , T. S. (1982). Analytical Models for Laboratory Populations of Callosobruchus chinensis and C. maculatus (Coleoptera :Bruchidae).Journal of Animal Ecology, 51(1) , 263-287**.** https://www.jstor.org/stable/4324

CABI.(2017). Compendium,I.S.Spodopter frugiperda(fallarmyworm). CABI,Wallingford,UKhttp: https://www.cabi.org/Uploads/2017%20Books%20Catalogue.pdf

Campos, E. V. R.; Proença, P. L. F.; Oliveira, J. L.; Pereira, A. E. S.; Ribeiro, L. N. M.; Fernandes, F. O.; Gonçalves, K. C.; Polanczyk, R. A.; Pasquoto-Stigliani, T.; Lima, R.; Melville, C. C.; Vechia, F. D.; Andrade, D. J. and Fraceto, L. F.(2018). Carvacrol and linalool co-loaded in β-cyclodextrin-grafted chitosan nanoparticles as sustainable biopesticide aiming pest control. Sci Rep. 8 (1): 1-14.

ISSN (Paper)-1994-697X (Online)-2706-722X

https://repositorio.unicamp.br/Busca/Download?codigoArquivo=488364

Central statistical organization (2021). Annual report of wheat and barley production in Iraq .Agricltural statistics directorate .iraq. 22 pages.
https://www.cosit.gov.iq/documents/agriculture/agre_plant/full%20reports/%D8%AA%D9%82%D8%B1%D9%8A%D8%B1%20%D8%A7%D9%84%D8%AD%D9%86%D8%B7%D8%A9%20%D9%88%20%D8%A7%D9%84%D8%B4%D8%B9%D9%8A%D8%B1%20%D9%84%D8%B3%D9%86%D8%A9%202021.pdf
Harborne JB. Phytochemical methods(1981):. London: Chapman and Hall, Ltd; 1973. p. 49–188. Ikan, R., Natural products: A laboratory guide, Academic Press, London. 10.
https://www.researchgate.net/profile/Br-Rajeswara-Rao/post/What-is-the-most-efficient-method-for-extraction-of-phytochemicals-from-plants/attachment/59d6460ec49f478072eae359/AS%3A273831246139392%401442297864226/download/Phytochemical+methods-Harborne.pdf
Kango, S.; Kalia, S.; Celli, A.; Njuguna, J.; Habibi, Y. and Kumar, R. (2013). Surface modification of inorganic nanoparticles for development of organic − inorganic nanocomposites areview. Prog. Polym. Sci. 38(8): 1232-1261.
https://www.infona.pl/resource/bwmeta1.element.elsevier-6d9020bf-9c7c-3806-ab48-7d354aa2036c
Kashyap, P. L.; Xiang, X. and Heiden, P. (2015). Chitosan nanoparticle based delivery systems for sustainable agriculture. Int. J. Biol. Macromol. 77: 36 -51.
/https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25748851
Alquraishi, Mushtak Talib. (2001). Biological evaluation of some crude plant extracts of Tetranyvhus turkestani. Master thesis. College of Agriculture, University of Baghdad

Rajkumar, V.; Gunasekaran, C.; Paul, C. A. and Dharmaraj, J. (2020). Development of encapsulated peppermint essential oil in chitosan nanoparticles: Characterization and biological efficacy against stored-grain pest control. Pesticide Biochemistry and Physiology .170: 104679.
https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32980061
Romeilah, R. M.; S. A. Fayed and Mahmoud, G. I.(2010). Chemical composition, antiviral and antioxidant activities of sevene ssential oils. Journal of Applied Sciences Research, 6(1):50-62.
https://www.researchgate.net/publication/279603875_Chemical_compositions_antiviral_and_antioxidant_activities_of_seven_essential_oils
Salehi, B.; Zakaria, Z.A.; Gyawali, R.; Ibrahim, S.A.; Rajkovic, J.; Shinwari, Z.K.; Khan, T.; Sharifi-Rad, J.; Ozleyen, A.; Turkdonmez, E.(2019). Piper Species: A comprehensive review on their phytochemistry, biological activities and applications. Molecules, 24, 1364. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30959974/
Sekgobela, M. M. (2019). Performance of Elite Cowpea (Vigna unguiculata) Genotypesat Mankweng and Bela-Bela, Lampopo Province, Master of Science in Agirculture, School of Agirculture and Environmental Sciences, University of Limpopo, Sauth Africa.
http://ulspace.ul.ac.za/bitstream/handle/10386/2907/sekgobela_mm_2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y
Singh, S. R. and L. E. N. Jackai (1985). Insect pests of cowpeas in Africa: their life cycle, economic importance and potential for control. Cowpea Research, Production and Utilization. 217-232p .
https://www.scirp.org/(S(vtj3fa45qm1ean45%20vvffcz55))/reference/referencespapers.aspx?referenceid=2746711

Thandar, K., Laosatit, K., Yimram, T., & Somta, P. (2021). Genetic analysis of seed resistance to Callosobruchus chinensis and Callosobruchus maculatus in cowpea. Journal of Stored Products Research, 92, 101783..
https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022474X21000229

Vallavan Rajkumara, Chinappan Gunasekarana , Jayaraman Dharmaraja , Panneerselvam Chinnaraja , Cheruvathur Amita Paula , Inbaraj Kanithachristy(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 .