

Effect of treating the larval stage of the large waxworm *Galleria mellonella* with different concentrations of zinc oxide nanomaterials ZnO, titanium dioxide TiO₂ and *Bacillus thuringiensis* spores on some aspects of the insect's life.

Duaa Basim Abdulrahman ^{1*}, Adnan Mousa Mohamed ²

^{1*,2}Department of Biology, Education College for Pure Science, University of Mosul, Mosul, Iraq

E-mail: ^{1*} duaabasim88@gmail.com, ^{2*} adnanmosa29@yahoo.com

(Received August 08, 2022; Accepted November 03, 2022; Available online December 01, 2022)

DOI: [10.33899/edusj.2022.134812.1263](https://doi.org/10.33899/edusj.2022.134812.1263), © 2022, College of Education for Pure Science, University of Mosul.

This is an open access article under the CC BY 4.0 license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

Abstract

The present study was conducted to determine the impact of nanoparticles (TiO₂ and ZnO) at concentrations (100,500,1000,5000) ppm and *Bacillus thuringiensis* spores at concentration (10⁶,10⁷,10⁸ and 10⁹ cells/ml of Distilled water on some biological aspects of greater wax moth (*Galleria mellonella*). The results showed that these materials have a significant effect on the development stages, larva and pupa of *Galleria mellonella*. The nanoparticles had a clear effect on the mortality of the insect at high concentrations, 5000ppm of ZnO increased the killing rate in the larvae and pupae to 80.10% and 34.64 respectively. Treatment with these materials also had a significant effect in some biological aspects of the first generation adults. The average number of eggs was 22.667 and 10.007 in the treatment with concentration 5000ppm of both TiO₂ and ZnO respectively, while the average number of eggs was 9.667 in the treatment with 10⁶ of *Bacillus thuringiensis* spores. Treatment with concentration 5000ppm also caused a reduction in the eggs laying of the greater wax moth to reach 87.720 and 95.163% of both, TiO₂ and ZnO respectively, compared with *Bacillus thuringiensis* spores with showed 94.233% at 10⁶ concentration.

Keyword: *Galleria mellonella*, *Bacillus thuringiensis*, ZnO, TiO₂

تأثير معاملة الطور اليرقي لدودة الشمع الكبرى *Galleria mellonella* بتراكيز مختلفة من المواد النانوية
أوكسيد الزنك ZnO وثنائي أوكسيد التيتانيوم TiO₂ وسبورات بكتريا *Bacillus thuringiensis* في بعض
الأوجه الحياتية للحشرة

دعاء باسم عبدالرحمن ^{1*}, عدنان موسى محمد ^{2*}

^{1*} و ^{2*} قسم علوم الحياة , كلية التربية للعلوم الصرفة , جامعة الموصل , الموصل , العراق

الخلاصة:

تبحث الدراسة الحالية عن تأثير المواد النانوية أوكسيد الزنك النانوي ZnO Nps وثنائي أوكسيد التيتانيوم النانوي TiO₂ Nps بالتراكيز 100, 500, 1000 و 5000 ج.ف.م و سبورات بكتريا *Bacillus thuringiensis* بالتراكيز 10⁶, 10⁷, 10⁸, 10⁹

خلية/مل ماء مقطر للمقارنة بين فعالية هذه المواد في بعض الالوجه الحياتية لدودة الشمع الكبرى *Galleria mellonella*

اظهرت النتائج أن للمواد المستخدمة تأثيراً معنوياً على اطوار الحشرة المختلفة، فنلاحظ ان المواد أثرت على مدة الطور اليرقي والطور العذري والتي اختلفاً معنوياً عن معاملة المقارنة، فضلا عن ذلك ادت المعاملة بالمواد الى الحصول على نسب قتل عالية للطورين اليرقي والعذري إذ بلغت 80.10 % و 34.64 % على التوالي عند التركيز 5000 ج.ف.م لمادة اوكسيد الزنك النانوي. كان للمعاملات تأثير معنوي في عدد من الالوجه الحياتية لأفراد الجيل الاول، اذ انخفضت إنتاجية الإناث من البيض عند التراكيز العالية اذ بلغت 22.667 و 10.007 بيضة عند التركيز 5000 ج.ف.م لكل من مادتي ZnO و TiO₂ على التوالي في حين بلغ عدد البيض 9.667 بيضة في مادة سبورات البكتريا عند التركيز 10⁶ خلية/مل ماء مقطر، كما حصل احتباس في وضع البيض لأناث حشرة دودة الشمع الكبرى المعاملة ، اذ بلغت 87.720 و 95.163% عند التركيز 5000 ج.ف.م لكل من مادتي ZnO و TiO₂ على التوالي ، في حين بلغ احتباس البيض 94.223% في مادة سبورات البكتريا *Bacillus thuringiensis* عند التركيز 10⁶ خلية/مل ماء مقطر.

الكلمات المفتاحية: دودة الشمع الكبرى، المواد النانوية، اوكسيد الزنك، ثنائي اوكسيد التيتانيوم، سبورات بكتريا *Bacillus thuringiensis*

المقدمة Introduction

تعود حشرة دودة الشمع الكبرى *Galleria mellonella* الى رتبة Lepidoptera وعائلة Pyralidae وتعد اليرقات هي الطور الخطير على الاطارات الشمعية إذ تسبب اضراراً كبيرة واقتصادية للمناحل التي تحتوي على اطارات شمعية مستعملة او بعد انتهاء موسم النشاط اذ تقتك هذه الحشرة بالاطارات الشمعية ذات الخلايا الضعيفة او متوسطة القوى ، وتنتشر هذه الحشرة في محافظات العراق كافة الا انها تكون بنسب اكبر في المحافظات الشمالية مقارنة بمحافظات الوسط والجنوب اذ تتواجد في المناحل التي لا يتوفر فيها عناية تامة للخلايا المستخدمة في التربية ، بالاضافة الى قلة الفحص الدوري للخلايا حيث انها تهاجم الخلايا الضعيفة عكس الخلايا القوية التي تستطيع مقاومتها والقضاء عليها [1].

اشتمت كلمة "نانو" من الكلمة الاغريقية "Nanos" والتي تعني "القرم"، ويمثل النانو جزءاً من مليار، وعليه فإن النانومتر nm يعادل 10⁻⁹. ولتخيل الامر فإن 1 نانومتر يقاس ثلاث ذرات كربون مصطفة بجانب بعضها البعض، وأن فيروس الرشح يقاس نحو 100 نانومتر ، و متوسط قطر شعرة الانسان يقاس نحو 10000 نانومتر [2].ومن المتعارف عليه أن المواد تكون ضمن المقياس النانوي nanomaterials إذا كان أحد أبعادها لا يتجاوز 100 نانومتر. ويطلق على العلم الذي يتناول تطبيقات استخدام هذه المواد علم تقانة النانو (Nanotechnology) [3]. تعد تقانة النانو من أهم التقانات التي تدخل في مجالات متعددة، إذ تعتمد على تخليق جسيمات بأبعاد نانوية (NPs) ،حيث تمتلك هذه الجسيمات خصائص مختلفة عن المعادن التي تكونت منها وذلك بناء على هندسة جزيئات المعدن بأشكال وأحجام متنوعة [4]،وقد زاد الاهتمام في السنوات الاخيرة بإنتاج المواد المعدنية النانوية لما لها من استخدامات في مجالات متنوعة كالمجالات الطبية الحيوية والزراعية والبيئية والصناعية [5].

يعد استخدام المواد النانوية في مجال مكافحة الآفات من الطرائق المفيدة بيئياً، حيث يتم تحلل تلك المواد في النظام البيئي من جهة كما يصعب على الآفات ذات النظام الغذائي المتنوع تشكيل سلالات مقاومة بسهولة وسرعة [6].

تهدف الدراسة الحالية إلى :

1- اختبار تأثير فعالية سبورات بكتريا *B.thuringiensis* وبعده تراكيز في بعض الأوجه الحياتية لدودة الشمع الكبرى *G.mellonella*
2- مقارنة فعالية المواد النانوية (أوكسيد الزنك النانوي ZnO وثنائي أوكسيد التيتانيوم TiO₂) في السيطرة على حياوية دودة الشمع الكبرى وبتراكيز مختلفة.

المواد وطرائق العمل

مصدر الحشرات وطريقة تربيتها:

تم الحصول على دودة الشمع الكبرى *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: pyralidae) من خلال جمع الشمع المصاب من بعض المناحل الاهلية المنتشرة في بعض المناطق في محافظة نينوى ووضعت اليرقات مع شمع داكن (نخاريب) كغذاء لها في قناني بلاستيكية في الحاضنة بدرجة حرارة 30 ± 1 م° و رطوبة نسبية 70 ± 5%، للحصول على الحشرات وديمومة المستعمرة وكانت المزرعة تجدد باستمرار بعد كل جيل.

المواد النانوية :

استخدمت مادة اوكسيد الزنك النانوية ZINC OXIDE NANOPARTICLES, وتم شراؤها من شركة: (International Trading Oma Authorized Partner Of Sigma Aldrich\Germany) واستنادا الى توصيف الشركة المصنعة استخدم اوكسيد الزنك النانوي عند حجم 5 نانومتر وتم عمل التراكيز (5000,1000,500,100) ج.ف.م (جزء في المليون) فضلا عن استخدام مادة ثنائي اوكسيد التيتانيوم Titanium Dioxide nanoparticles (TiO₂) من شركة Sigma-Aldrich , China اذ كانت بهيئة بلورات على شكل مسحوق ابيض اللون , وقياس الجسيمات اقل من 25 نانومتر وتم عمل التراكيز (5000,1000,500,100) ج.ف.م

تحضير تراكيز المواد النانوية

تم تحضير محلول اساس Stock solution من اذابة 5 غم من المواد النانوية (أوكسيد الزنك النانوي وثنائي أوكسيد التيتانيوم) في لتر ماء مقطر باستخدام الخلاط لمدة 10 دقائق, وتم الحصول على محلول بتركيز 5000 ج.ف.م وتم الاحتفاظ بهذه المحاليل في الثلاجة لحين الاستعمال.

تم تحضير التراكيز (1000,500,100 و 5000) ج.ف.م من تخفيف المحلول الاساس بالماء المقطر

سبورات بكتريا *B. thuringiensis*

تم الحصول على عزلة محلية من سبورات البكتريا من مختبرات وقاية النبات في كلية الزراعة والغابات من الدكتور علاء حميد الخفاجي وتم عمل التراكيز 10⁶, 10⁷, 10⁸, 10⁹ خلية/مل ماء مقطر.

تحضير وتنقية عزلة البكتريا *B.thuringiensis*.

تم تحضير الوسط الغذائي (NA) Nutrient Agar بوزن 20 غم/لتر من شركة Microxpress الهندية, وتم وضعها في دورق زجاجي (flask) سعة 250 مل إذ أضيف الماء المقطر إلى الوسط ثم وضع في جهاز المؤصدة Autoclave عند درجة حرارة 121 سيليزية وضغط واحد بار لمدة 15 دقيقة وبعدها صب في أطباق بتري بلاستيكية قطر 9سم وتركها إلى أن تصلب ثم أخذت مسحة من مستعمرة البكتريا بعمر 48 ساعة بواسطة لوب معقم باللهب وزرع فوق سطح الوسط عن طريق عمل خط نمو مستقيم حضنت البكتريا لمدة 24 ساعة عند درجة حرارة 30 م° [7]

اجريت التجربة كالاتي :

معاملة اليرقات:

عوملت يرقات بعمر عشرة ايام [8]لدودة الشمع الكبرى بالمواد النانوية المستخدمة في هذه الدراسة، فضلاً عن سبورات بكتريا *B.thuringiensis* وباستعمال المحقنة الدقيقة Micro applicator حيث تم وضع على الجهة الظهرية 0.5 مايكرو لتر لكل يرقة وعمل ثلاثة مكررات لكل تركيز 100, 500, 1000 و 5000 ج.ف.م بالنسبة للمواد النانوية اوكسيد الزنك ZnO وثنائي اوكسيد التيتانيوم TiO₂ و 10⁶, 10⁷, 10⁸ و 10⁹خلية/مل بالنسبة لسبورات بكتريا *B.thuringiensis* وفي كل مكرر 10 يرقات، فضلاً عن معاملة السيطرة المعاملة بالماء المقطر .

وضعت اليرقات المعاملة في قناني بلاستيكية سعة 80 سم³ ووضع الشمع الداكن بعد التأكد من خلوه من أية اصابة كغذاء

لليرقات ؛ واحتسب

1-مدة الطور اليرقي والعذري

2-% للموت في الطور اليرقي والعذري

3-عدد الحشرات البازغة

4-النسبة الجنسية

5-خصوبة اناث الجيل الاول

6-% للبيض الفاقس

7- معامل احتباس البيض حسب معادلة [9]

معامل الاحتباس = ق-ع / ق+ع × 100

ق = عدد بيض انثى المقارنة.

ع = عدد بيض انثى المعاملة.

التحليل الاحصائي

حللت النتائج احصائياً باستخدام برنامج SAS بالحاسوب الالي, مع استخدام التصميم العشوائي الكامل (C.R.D.) كتجربة

عاملية, ثم اختبرت الفروقات بين المتوسطات باستخدام اختبار دنكن متعدد المدى تحت مستوى احتمال 5 % [11,10]

النتائج والمناقشة

تأثير معاملة الطور اليرقي

1- التأثير في مدة الطورين اليرقي والعذري/ يوم.

اظهرت النتائج المبينة في الجدول (1) تأثير المواد النانوية اوكسيد الزنك وثنائي اوكسيد التيتانيوم المستخدمة بتركيز

100, 500, 1000, 5000 ج.ف.م بالاضافة الى تأثير سبورات بكتريا *B.thuringiensis* المستخدمة بالتركيز 10⁶, 10⁷, 10⁸, 10⁹

خلية/مل ماء مقطر على مدة الطورين اليرقي والعذري في معاملة يرقات دودة الشمع الكبرى *G.mellonella*.

اذ تشير النتائج الى وجود فروقات معنوية واضحة في مدة الطور اليرقي المعاملة بتركيز مختلفة مقارنة بالمواد قيد الدراسة مع

معاملة المقارنة (الضابطة) , اذ بلغت معاملة المقارنة 25.863 يوماً وقد اختلفت معنوياً مع اعلى مدة للطور اليرقي في مادة ثنائي

اوكسيد التيتانيوم عند التركيز 5000 ج.ف.م اذ بلغت 35.700 يوماً والتي اختلفت معنوياً عند نفس التركيز لاوكسيد الزنك اذ بلغت

31.667 يوماً.

بصورة عامة فان مدة الطور اليرقي كانت اقصرها في معاملة سبورات بكتريا *B.thuringiensis* اذ بلغت 28.013 يوما عند التركيز 10^9 خلية/ مل ماء مقطر والتي اختلفت معنوياً عن اعلى مدة للطور اليرقي في معاملة سبورات البكتريا اذ بلغت 40.917 و 40.233 يوم عند التركيزين 10^6 و 10^7 خلية/ مل ماء مقطر على التوالي , وبلغت 36.600 يوماً عند التركيزين 10^8 خلية/ مل ماء مقطر على التوالي وجميعها اختلفت معنوياً عن معاملة المقارنة (الضابطة).

كما اظهرت النتائج تأثير التداخل بين تراكيز المواد المستخدمة و مدة الطور العذري لمعاملة يرقات دودة الشمع الكبرى *G.mellonella* اذ يبين الجدول (1) ان هناك اختلافات معنوية بين المعاملات وقد اختلفت جميعها معنوياً عن معاملة المقارنة التي بلغت 9.00 يوماً في حين بلغت اطول مدة للطور العذري في معاملة اوكسيد الزنك النانوي عند التركيز 100 ج.ف.م وبلغت 19.677 يوماً, في حين لم يكن هناك اي فرق معنوي لمدة الطور العذري في معاملة اوكسيد الزنك ZnO عند التركيزين 1000 و 5000 ج.ف.م اذ بلغت 13.770 و 12.277 يوماً على التوالي.

اما فيما يخص مادة التيتانيوم فان اعلى مدة للطور العذري كانت عند التركيز 5000 ج.ف.م اذ بلغت 18.967 يوماً, في حين لم يكن هناك اي فرق معنوي في معاملة الطور العذري لمادة ثنائي اوكسيد التيتانيوم عند التركيزين 100 و 500 ج.ف.م اذ بلغت 14.167 و 14.700 يوماً على التوالي. اما في معاملة سبورات بكتريا *B.thuringiensis* فان اطول مدة للطور العذري بلغت 20.577 يوماً عند التركيز 10^6 خلية/ مل ماء مقطر, يليها المعاملة بالتركيز 10^7 خلية/ مل ماء مقطر اذ بلغت 16.170 يوماً وكان بينهما فرق معنوي , في حين لم يكن هناك اي فرق معنوي لمدة الطور العذري عند التركيزين 10^8 , 10^9 خلية/ مل ماء مقطر اذ بلغت 14.577 و 13.660 يوماً على التوالي.

ومن التداخل بين المواد النانوية ومعاملة سبورات البكتريا و مدة الطور العذري لمعاملة يرقات دودة الشمع الكبرى *G.mellonella* انه لم يكن هناك فروقات معنوية في المعاملات جميعها كما في معاملة اوكسيد الزنك عند التركيزين 1000 و 5000 ج.ف.م ومعاملة ثنائي اوكسيد التيتانيوم عند التركيزين 100 و 500 ج.ف.م ومعاملة سبورات بكتريا *B.thuringiensis* عند التركيزين 10^8 , 10^9 خلية/ مل ماء مقطر, في حين اختلفت جميعها معنوياً عن معاملة المقارنة (الضابطة).

نلاحظ من خلال الجدول (1) ايضا ان المعاملة باوكسيد الزنك ZnO وسبورات بكتريا *B.thuringiensis* كان تأثيرها عكسياً مع التركيز اذ كلما زاد التركيز تقل مدة الطور العذري لحشرة دودة الشمع الكبرى *G.mellonella*.

أكد [12] ان حجم الجزيئات النانوية مقارب لحجم البروتينات الخلوية, لذا فان الجسيمات النانوية لها القدرة على عبور بعض حواجز النظم البيولوجية, والغشاء الخلوي الاختياري النفاذية وله القابلية على التحكم بحركة الجزيئات الكبيرة او الصغيرة داخل وخارج الخلية , هذا الامر ادى الى الحصول على النتائج سابقة الذكر.

اوضحت [13] ان لمعاملة يرقات ذبابة *Chrysomya albiceps* ببكتريا *B.thuringiensis* أثراً في إطالة مدة الطور اليرقي بالمقارنة مع معاملة السيطرة, وطول مدة التعذر وقلة عدد اليرقات التي وصلت الى الطور العذري وهذا مقارب لما حصلنا عليه من نتائج.

واتفقت النتائج مع [14] ان تعريض يرقات فراشة طحين البحر المتوسط *Ephestia kuehniella* لتراكيز تحت قاتلة من بكتريا *B.thuringiensis*, قد أدت الى إطالة في الطور اليرقي حيث تحولت عذارى المقارنة غير المعامل بالبكتيريا الى حشرات كاملة في حين بقيت بعض اليرقات في طور اليرقة ولم تتحول الى عذارى ومن ثم الى حشرة كاملة.

جدول (1) تأثير معاملة يرقات دودة الشمع الكبرى *G.mellonella* بتراكيز مختلفة من المواد النانوية اوكسيد الزنك ZnO وثنائي اوكسيد التيتانيوم TiO₂ وسبورات بكتريا *B.thuringiensis* في مدة الطورين اليرقي والعذري.

مدة الطور (يوم)		التركيز	المادة
العذري	اليرقي		
19.67 ab	35.83 bcd	100	اوكسيد الزنك ZnO
14.86 cd	34.66 cd	500	
13.770 d	32.66 cde	1000	
12.27 d	31.66 Cd2	5000	
14.16 d	31.30 cde	100	ثنائي اوكسيد التيتانيوم TiO ₂
14.70 d	31.60 cde	500	
15.60 bcd	34.83 cd	1000	
18.96 abc	35.70 bcd	5000	
20.50 a	40.91 a	10 ⁶	سبورات بكتريا <i>B.thuringiensis</i>
16.17 bcd	40.23 ab	10 ⁷	
14.57 d	36.60 abc	10 ⁸	
13.66 d	28.01 ef	10 ⁹	
9.00 e	25.86 f		المقارنة

الارقام التي تحمل احرف مختلفة تختلف عن بعضها معنويا عند مستوى احتمال 5% وحسب اختبار دنكن متعدد المدى
2- التأثير في% للقتل في الطورين اليرقي والعذري.

اظهرت النتائج المبينة في الجدول (2) تأثير جسيمات اوكسيد الزنك ZnO وثنائي اوكسيد التيتانيوم TiO₂ النانوية المستخدمة بالتراكيز 100, 500, 1000 و 5000 ج.ف.م بالاضافة الى تأثير سبورات بكتريا *B.thuringiensis* المستخدمة بالتراكيز 10⁶, 10⁷, 10⁸ و 10⁹ خلية/مل ماء مقطر في النسبة المئوية للقتل في الطورين اليرقي والعذري لمعاملة يرقات حشرة دودة الشمع الكبرى *G. mellonella*.

اذ تشير النتائج الى وجود فروق معنوية واضحة في نسبة القتل لافراد الطور اليرقي لحشرة دودة الشمع الكبرى *G. mellonella*, حيث يبين الجدول ان اعلى نسبة للقتل في الطور اليرقي بلغت 80.10% عند التركيز 5000 ج.ف.م لمادة اوكسيد الزنك النانوية , في

حين كانت اقل نسبة للقتل في الطور اليرقي 20.25% لسبورات بكتريا *B.thuringiensis* عند التركيز 10^9 خلية/مل ماء مقطر, واللدان اختلفا معنويا عن معاملة المقارنة (الضابطة) التي بلغت 9.94%.

نلاحظ من الجدول ادناه انه لا يوجد فرق معنوي في معاملة اوكسيد الزنك النانوي ZnO عند التركيزين 500 و 1000 ج.ف.م.م اذ بلغت نسبة القتل 33.11 و 34.02% على التوالي. في حين نلاحظ ان نسب القتل للطور اليرقي في معاملة ثنائي اوكسيد التيتانيوم TiO_2 يوجد بينها فروق معنوية واضحة في التراكيز المستخدمة من هذه المادة 100, 500, 1000 و 5000 ج.ف.م.م اذ بلغت 41.88, 42.45, 47.617 و 55.50% على التوالي. في حين لم يكن هناك فرق معنوي بين مادة التيتانيوم عند التركيز 5000 ج.ف.م.م ومادة سبورات بكتريا *B.thuringiensis* عند التركيز 10^7 خلية/مل ماء مقطر لكنهما اختلفا معنويا عن معاملة المقارنة (الضابطة).

في حين بلغت نسبة القتل لمعاملة سبورات بكتريا *B.thuringiensis* في معاملة الطور اليرقي 34.70, 54.08, 56.66 و 20.25% عند التراكيز 10^6 , 10^7 , 10^8 و 10^9 خلية/مل ماء مقطر على التوالي.

تشير النتائج (جدول 2) الى وجود فروق معنوية واضحة في نسب القتل لافراد الطور العذري في معاملة طور اليرقة لحشرة دودة الشمع الكبرى *G. mellonella*, حيث يبين الجدول ان اعلى نسبة للقتل في الطور العذري كانت في معاملة مادة ثنائي اوكسيد التيتانيوم عند التركيزين 1000 و 5000 ج.ف.م.م اذ بلغت 55.53 و 57.14% على التوالي في حين لم يكن هناك فرق معنوي لنفس المادة عند التركيزين 100 و 500 ج.ف.م.م اذ بلغت 36.32 و 38.57% على التوالي وجميع نسب قتل هذه المادة اختلفت معنويا عن معاملة المقارنة (الضابطة) التي بلغت 8.36%

اما في معاملة سبورات البكتريا *B.thuringiensis* فقد بلغت نسب القتل في الطور العذري 26.29, 37.62, 48.60 و 18.17% عند التراكيز 10^6 , 10^7 , 10^8 و 10^9 خلية/مل ماء مقطر على التوالي, والتي اختلفت معنويا عن معاملة المقارنة التي بلغت 8.36%, في حين بلغت اقل نسبة للقتل في الطور العذري في معاملة طور اليرقة لدودة الشمع الكبرى 10.77% عند التركيز 100 ج.ف.م.م لمادة اوكسيد الزنك النانوية والتي اختلفت معنويا عن معاملة المقارنة (الضابطة).

اكادت [15] تأثير جسيمات اوكسيد الزنك النانوي ZnO حجم 5 و 100 نانومتر وجسيمات الفضة النانوية Ag حجم 100 نانومتر حول التأثير القاتل على نمو وتطور خنفساء اللوبيا الجنوبية *C.maculatus* اذ تمت معاملة بذور الحمص بالجسيمات النانوية, وظهرت النتائج ارتفاع معدل نسبة القتل في الطور اليرقي بنسبة 98.0% عند التركيز 1000ppm من جسيمات اوكسيد الزنك النانوية في حين بلغ معدل نسبة القتل في الطور العذري 60% عند التركيز 500ppm.

بين [16] ان اليرقات التي بقيت حية بعد تغذيتها على جرعات تحت قاتلة من سموم البكتريا *B.thuringiensis* قد ارتفعت فيها كمية هرمون الشباب JH مانعا بذلك اليرقات من التحول الى عذارى بالاضافة الى اطالة فترة الطور اليرقي في حفار ساق الذرة *Sesamia nanogriodes* في البحر المتوسط وبالتالي تؤدي الى تلف الخلية وموتها, ويمكن ان يعزى ذلك الى حالة اعادة الشفاء التي تقوم بها الخلايا المتضررة في المعوي المتوسط لليرقات التي تغذت على تراكيز تحت قاتلة من السموم البكتيرية ويمكن ان تتابع حياتها الطبيعية

جدول (2) تأثير معالجة يرقات دودة الشمع الكبرى *G.mellonella* بتركيز مختلفة من المواد النانوية اوكسيد الزنك ZnO وثنائي اوكسيد التيتانيوم TiO₂ وسبورات بكتريا *B.thuringiensis* في % للقتل في الطورين اليرقي والعذري.

% للقتل في الطور		التركيز	المادة
العذري	اليرقي		
10.17 d	30.00 ef	100	اوكسيد الزنك ZnO
17.77 cd	33.11 def	500	
18.83 cd	43.02 def	1000	
34.64 abc	80.10 a	5000	
36.32 abc	41.88 bcde	100	
38.57 abc	42.45 bcde	500	ثنائي اوكسيد التيتانيوم TiO ₂
55.14 a	47.61 bcd	1000	
57.14 a	55.50 bc	5000	
48.60 ab	56.66 b	10 ⁶	سبورات بكتريا <i>B.thuringiensis</i>
37.17 abc	54.08 b	10 ⁷	
26.29 bcd	34.70 def	10 ⁸	
18.17 cd	20.25 fg	10 ⁹	
8.36 d	9.94 g		
			المقارنة

الارقام التي تحمل احرف مختلفة تختلف عن بعضها معنويا عند مستوى احتمال 5% وحسب اختبار دنكن متعدد المدى تأثير معالجة يرقات دودة الشمع الكبرى *G.mellonella* بتركيز مختلفة من المواد النانوية اوكسيد الزنك ZnO وثنائي اوكسيد التيتانيوم TiO₂ وسبورات بكتريا *B.thuringiensis* في عدد الحشرات البازغة والنسبة الجنسية

يبين الجدول (3) ان لمعالجة يرقات دودة الشمع الكبرى *G. mellonella* بتركيز مختلفة من المواد النانوية اوكسيد الزنك ZnO وثنائي اوكسيد التيتانيوم TiO₂ وسبورات بكتريا *B.thuringiensis* في متوسط عدد الحشرات البازغة والنسبة الجنسية تأثيراً واضحاً. يبين الجدول (3) ان اقل متوسط لعدد الحشرات البازغة بلغ 20.0 في معالجة سبورات بكتريا *B.thuringiensis* عند التركيز 10⁶ خلية/مل ماء مقطر, في حين بلغ اعلى متوسط لعدد الحشرات البازغة 80.3 % عند التركيز 100 ج.ف.م في معالجة اوكسيد الزنك النانوي ولم يختلف متوسط هذا العدد عن معالجة ثنائي اوكسيد التيتانيوم TiO₂ عند نفس التركيز اذ بلغ 70.3 % , ولقد اختلفت كلتا المعاملتين اختلافا معنوياً عن معاملة المقاومة التي بلغت 93.0 %.

كان تأثير التداخل بين التركيز والمادة تأثير واضحاً , نلاحظ من خلال الجدول انه لم يكن هناك اختلاف معنوي بين مادتي اوكسيد الزنك ZnO وثنائي اوكسيد التيتانيوم TiO₂ عند نفس التركيز لكلتا المادتين 500 ج.ف.م اذ بلغ متوسط عدد الحشرات البازغة 62.3 و 59.6% على التوالي بالاضافة الى ذلك لم يكن هناك اختلاف معنوي للمواد النانوية المستخدمة ZnO و TiO₂ عند التركيز 5000 ج.ف.م اذ بلغ متوسط عدد الحشرات البازغة 25.6 و 26.6%.

نلاحظ من الجدول ايضا تأثير معاملة سبورات بكتريا *B.thuringiensis* على متوسط عدد الحشرات البازغة عند التراكيز 10⁶, 10⁷, 10⁸, و 10⁹ خلية/مل ماء مقطر اذ بلغت 20.0, 29.3, 45.0 و 65.0% حشرة على التوالي وكان بين هذه المعاملات اختلافا معنوياً.

اشار [17] الى السبب في موت الاطوار المختلفة للحشرات يعزى الى ان الجسيمات النانوية يمكن ان تعمل تشوهات او شذوذاً في الكروموسومات وتلف الحامض النووي DNA مما يؤدي الى تلف الخلية وموتها. كما أكدت [13] أن معاملة غذاء اليرقات بتراكيز متسلسلة من بكتريا *B. thuringiensis* أدت إلى زيادة نسبة الهلاك مع مرور الوقت.

جدول (3) تأثير معاملة يرقات دودة الشمع الكبرى *G.mellonella* بتراكيز مختلفة من المواد النانوية اوكسيد الزنك ZnO وثنائي

اوكسيد التيتانيوم TiO₂ وسبورات بكتريا *B.thuringiensis* في عدد الحشرات البازغة والنسبة الجنسية

النسبة الجنسية	% للحشرات البازغة	التركيز	المادة
♀ : ♂			
1≈1.3	80.3 b	100	اوكسيد الزنك ZnO
1≈ 1.6	62.3 bc	500	
1.3≈2	39.0 c	1000	
1≈2	25.6 c	5000	
1≈2	70.3 b	100	ثنائي اوكسيد التيتانيوم TiO ₂
1~1.4	59.6 bc	500	
1:1	43.3 bc	1000	
1.6≈1	26.6 c	5000	
1.6≈1.3	20.0 d	10 ⁶	سبورات بكتريا <i>B.thuringiensis</i>
2 ≈1.6	29.3 c	10 ⁷	
1≈1.6	45.0 bc	10 ⁸	
1.3≈1.6	65.0 bc	10 ⁹	
1:1	93.0 a		

الارقام التي تحمل احرف مختلفة تختلف عن بعضها معنويا عند مستوى احتمال 5% وحسب اختبار دنكن متعدد المدى
4- التأثير في عدد البيض والنسبة المئوية للفقس ومعامل احتباس البيض لافراد الجيل الاول.

نلاحظ من الجدول (4) تأثير معاملة يرقات دودة الشمع الكبرى *G.mellonella* على عدد البيض الذي وضعتة اناث الجيل
الاول للحشرة بعد معاملتها بالمواد النانوية المستخدمة ومادة سبورات بكتريا *B.thuringiensis*.

يبين الجدول (4) ان للتداخلات الحاصلة بين المواد المستخدمة, التركيز والطور اليرقي تأثيرات معنوية متباينة على عدد البيض
لافراد الجيل الاول اذ بلغ متوسط عدد البيض في معاملة مادة اوكسيد الزنك النانوية 32.333, 31.00 و 30.667 بيضة /انثى عند
التركيز 100, 500 و 1000 ج.ف.م على التوالي وجميعها اختلفت معنويا مع التركيز 5000 ج.ف.م اذ بلغ 22.667 بيضة. كما يبين
الجدول ان اقل متوسط لعدد البيض كان في مادة ثنائي اوكسيد التيتانيوم عند التركيز 5000 ج.ف.م ومادة سبورات بكتريا
B.thuringiensis عند التركيز 10^6 خلية/مل ماء مقطر اذ بلغت 10.667 و 9.667 بيضة /انثى على التوالي, وكان هناك فرق معنوي
عال بين المعاملات جميعها ومعاملة المقارنة التي بلغت 323.333 بيضة /انثى.

كما يمكن ملاحظة تأثير مادة ثنائي اوكسيد التيتانيوم مع التركيز على عدد بيض اناث الجيل الاول اذ بلغ متوسط عدد البيض
31.667, 23.333, 16.667 و 10.667 بيضة /انثى عند التراكيز 100, 500, 1000 و 5000 ج.ف.م اذ نلاحظ انه كلما زاد التركيز
قل عدد بيض اناث الجيل الاول.

كما بين الجدول ادناه التداخل بين مادة سبورات بكتريا *B.thuringiensis* والتركيز المستخدم 10^6 , 10^7 , 10^8 و 10^9
خلية/مل ماء مقطر فقد بلغ متوسط عدد البيض 9.667, 21.667, 24.667 و 32.667 بيضة /انثى على التوالي. وجميع المعاملات
المذكورة سابقا اختلفت اختلافا معنويا مع معاملة المقارنة (الضابطة).

كما نلاحظ ايضا من الجدول (4) تأثير معاملة الطور اليرقي على النسبة المئوية للفقس للبيض الذي وضعتة اناث الجيل الاول
حيث يبين الجدول التداخل بين استخدام المواد النانوية وسبورات البكتريا والتركيز المستخدمة لكل مادة. حيث بلغ اعلى متوسط % للفقس
في معاملة سبورات البكتريا 44.033% عند التركيز 10^9 خلية/مل ماء مقطر ومادة اوكسيد الزنك النانوية 42.363% عند التركيز 100
ج.ف.م ولم يكن بين المعاملتين اي اختلاف معنوي بينهما, لكنهما مختلفان معنويا عن معاملة المقارنة التي بلغت 86.123%.
في حين بلغ اقل متوسط % للفقس في معاملة مادة ثنائي اوكسيد التيتانيوم 9.583 و 8.147% عند التركيزين 1000 و 5000
ج.ف.م ولم يكن بينهما اي فرق معنوي لكنهما اختلافا عن معاملة المقارنة.

يبين الجدول (4) ان النسبة المئوية لفقس بيض اناث الجيل الاول في معاملة الطور اليرقي لحشرة دودة الشمع الكبرى
G.mellonella عند المعاملة بالمواد النانوية تقل كلما زاد التركيز, فعند المعاملة بمادة اوكسيد الزنك كانت النسبة المئوية للفقس تبلغ
42.363, 35.893, 32.743 و 18.540% عند التراكيز 100, 500, 1000 و 5000 ج.ف.م على التوالي وهذه النسب اختلفت فيما
بينها اختلافا معنويا, وهذا الكلام ينطبق على معاملة ثنائي اوكسيد التيتانيوم اذ بلغت نسبة الفقس 17.553, 12.777, 9.583 و
8.147% عند التراكيز 100, 500, 1000 و 5000 ج.ف.م على التوالي وهذه النسب اختلفت فيما بينها اختلافا معنويا.

اما في حالة المعاملة بمادة سبورات بكتريا *B.thuringiensis* فانه كلما زاد التركيز زادت النسبة المئوية للفقس اذ بلغت
22.810, 23.093, 27.830 و 44.033% عند التراكيز 10^6 , 10^7 , 10^8 و 10^9 خلية/مل ماء مقطر على التوالي وهذه النسب
اختلفت فيما بينها اختلافا معنويا.

يبين الجدول (4) تأثير معاملة الطور اليرقي بتركيز مختلفة من المواد النانوية ومادة سبورات بكتريا *B.thuringiensis* في
معامل احتباس البيض وحسب المعادلة المذكورة سابقا, اذ اظهرت المواد المستعملة تأثير واضح على نسبة احتباس بيض اناث الجيل

الاول , اذ اظهرت معاملة اوكسيد الزنك تأثيراً واضحاً حيث كلما زاد التركيز زاد معامل احتباس البيض ونلاحظ ايضا انه لم يكن هناك فرق معنوي بين التراكيز الثلاثة الاولى والتي اختلفت معنوياً عن التركيز الرابع لمادة اوكسيد الزنك النانوي 100, 500, 1000 و 5000 ج.ف.م اذ بلغ معامل الاحتباس 82.933, 83.700, 83.753 و 87.720%.

اما في معاملة ثنائي اوكسيد التيتانيوم فإنه يمكن ملاحظة تأثير هذه المادة والتراكيز المستخدمة على معامل احتباس بيض اناث الجيل الاول حيث كلما زاد التركيز زاد معامل احتباس البيض وايضا لم يكن هناك فروق معنوية بين التراكيز 100 و 500 ج.ف.م اذ بلغت 83.233 و 85.873% على التوالي من هذه المادة لكنهم اختلفوا معنوياً عن التركيز 1000 ج.ف.م الذي بلغ 91.013% , في حين بلغ معامل احتباس البيض 95.163% عند التركيز 5000 ج.ف.م، وجميع هذه المعاملات اختلفت معنوياً عن معاملة المقارنة.

نلاحظ من الجدول ايضا تأثير معاملة سيورات بكتريا *B.thuringiensis* بالتراكيز المستخدمة لهذه المادة على معامل احتباس بيض اناث الجيل الاول حيث كلما زاد التركيز قل معامل احتباس البيض فعند استخدام التراكيز 10^6 , 10^7 , 10^8 و 10^9 خلية/مل ماء مقطر بلغ معامل الاحتباس 94.223, 87.513, 85.917 و 81.877% على التوالي.

بعد حجم الجسيمات النانوية مقاربا لحجم البروتينات الخلوية , وهذه الميزة للجسيمات النانوية جعلت لها قدرة على عبور بعض حواجز النظم البيولوجية, والغشاء الخلوي اختياري النفاذية وله القابلية على التحكم بحركة الجزيئات الكبيرة او الصغيرة داخل وخارج الخلية[12].

وهذا النتائج تتفق مع دراسة[18] اذ درس تأثير مخاليط الجسيمات النانوية $\text{SiO}_2+\text{TiO}_2$ و $\text{CuO}+\text{TiO}_2$ و $\text{ZnO}+\text{TiO}_2$ على دودة ورق القطن *Spodoptera littoralis*, إذ أظهرت النتائج أنها تؤثر على الجوانب البيولوجية للحشرة، مثل مدة طور اليرقي والعذري، وخصوبة الإناث وقابلية فقس البيض والنسبة الجنسية للحشرة؛ لذلك اقترحوا استخدام هذه المخاليط في برامج مكافحة الآفات المتكاملة كبديل لمبيدات الآفات الكيميائية، كما أنها تعدّ آمنة للإنسان والتربة عند مقارنتها بالمبيدات الحشرية الاصطناعية وهذه النتائج التي حصلنا عليها مشابهة لما أكدّه [19] أن البالغات من دودة لوز القطن القرنفلية *Pectenophora gossypiella* التي تغذت في مرحلة اليرقات على السموم البكتيرية cry1Ac يقل مدة تطور الجنين لديها.

وكذلك قاربت ما استنتجه [20] أن استعمال البكتيريا *B. thuringiensis* في مكافحة دودة الشمع الكبرى يؤدي إلى تقليل كفاءة الحشرة من استهلاك الغذاء ومن ثمّ موت الحشرة بصورة تدريجية.

جدول (4) تأثير معاملة يرقات دودة الشمع الكبرى *G.mellonella* بتركيز مختلفة من المواد النانوية اوكسيد الزنك ZnO وثنائي اوكسيد التيتانيوم TiO₂ وسبورات بكتريا *B.thuringiensis* في عدد البيض والنسبة المئوية للفقس ومعامل احتباس البيض لأفراد الجيل الاول.

معاملة احتباس البيض	%للبيض الفقس	عدد البيض	التركيز	المادة
82.93 c	42.36 b	32.33 b	100	اوكسيد الزنك ZnO
83.70 c	35.89 bc	31.00 b	500	
83.75 c	32.743 bc	30.66 b	1000	
87.72 abc	18.54 def	22.66 bc	5000	
83.23 c	17.55 def	31.66 b	100	ثنائي اوكسيد التيتانيوم TiO ₂
85.87 c	12.77 ef	23.33 bc	500	
91.01 abc	9.58 f	16.66 bc	1000	
95.16 a	8.14 f	10.66 c	5000	
94.22 ab	22.81 cde	9.66 c	10 ⁶	سبورات بكتريا <i>B.thuringiensis</i>
87.51 abc	23.09 cde	21.66 bc	10 ⁷	
85.91 ab	27.83 cd	24.66 bc	10 ⁸	
81.87 c	44.03 b	32.66 bc	10 ⁹	
	86.12 a	323.33 a		المقارنة

الارقام التي تحمل احرف مختلفة تختلف عن بعضها معنوياً عند مستوى احتمال 5% وحسب اختبار دنكن متعدد المدى

الاستنتاجات

تبين نتائج معاملة يرقات دودة الشمع الكبرى بالمواد النانوية المستخدمة وسبورات بكتريا *Bacillus thuringiensis* اذ اعطت نتائج افضل ونسب قتل عالية في الاطوار الاخرى التي تستمر بعد الطور اليرقي، ويمكن الاستفادة من هذه المواد في الحد من اضرار هذه الحشرة على الاطارات الشمعية وبالتالي مكافحة الطور اليرقي (الطور الضار).

Acknowledgments الشكر والتقدير

اتقدم بالشكر الى الاستاذ الدكتور عدنان موسى على مساعدتي في اتمام هذه العمل فضلًا عن اساتذتي في كلية التربية للعلوم الصرفة وزملائي وزميلاتي من طلبة الدراسات العليا في قسم علوم الحياة وبالاخص زميلي عبدالله طلال النعيمي على مساعدته لي كما اتقدم بشكري الى كل من الدكتور محمد يوسف سيد غني والدكتور علاء حميد الخفاجي في كلية الزراعة والغابات.

المصادر

- [1] M. M. S. Saeed,. "Food preference for larvae of the waxworm (*Galleria mellonella* L.) when feeding on beeswax and other materials and their effect on some life characteristics", Al-Rafidain Agriculture Journal, Vol. (36) No. (2), (2008).
- [2] N.I. Hulkoti, and T.C. Taranath "Biosynthesis of nanoparticles using microbes—a review". Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 121:474-483. (2014).. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.05.027>
- [3] L.H. Madkour, "Nanoelectronic Materials: Fundamentals and Applications". Springer. 814 pp (2019).
- [4] P.V. Rao, and S.H. Gan. "Recent advances in nanotechnology-based diagnosis and treatments of diabetes". Current Drug Metabolism, 16: 371-375. (2015).
- [5] P., Singh.-, Y J.Kim, D.Zhang and D.-C. Yang. "Biological synthesis of nanoparticles from plants and microorganisms". Trends in biotechnology, 34: 588– 599. (2016).
- [6] E., M. El-Argawy, M.H.Rahhal, A.El-Korany, E.M. Elshabrawy, and R.M. Eltahan " Efficacy of some nanoparticles to control damping-off and root rot of sugar beet in El-Behiera Governorate". Asian Journal of Plant Pathology, 11: 35-47. (2017).<https://doi.org/10.3923/ajppaj.2017.35.47>.
- [7] L. H.A. Al-Dosky, "Environmental study and evaluation of the effectiveness of the fungus *Beauveria Paecilomyces farinosus* on some biological aspects of the sunn pest on wheat", PhD thesis, College of Agriculture, University of Mosul, 232 p. (2007).
- [8] T.M. Abdul-Jabbar,. "Effect of *Eucalyptus camaldulensis*. In the Life of the Great Waxworm *Galleria mellonella*, Master Thesis. faculty of Agriculture". Baghdad University. (2001)
- [9] D.Ma,; M.Zalucki, and G.Gordh,," Acomparison of abundance of *Helicoverpa spp.* and predators between Conventional and Bt cotton". Report to Rhone –poulence Rural Australia PTX Ltd.,Report-II,,25-38. (2002).
- [10] M.Al-Rawi,Kh. and Kh.A. Abdel Aziz, "Design and Analysis of Agricultural Experiments", Dar Al-Kutub for Printing and Publishing, University of Mosul. (2000).
- [11] S. H. Antar, and A. H.. Al-Wakaa, "Astatistical analysis of agricultural experiments using the SAS program". College of Agriculture, University of Diyala. (2017).
- [12] H. R. Paur, F. R. Cassee, J.Teeguarden, H., Fissan, , S.Diabate, , M.Aufderheide,... & O.Schmid,," In-vitro cell exposure studies for the assessment of nanoparticle toxicity in the lung—A dialog between aerosol science and biology". Journal of aerosol science, 42(10), 668-692. (2011).
- [13] Z. S. Noshi, "Biological control of some roles of the metal fly *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819) (Diptera: Calliphoridae) using the fungus *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin and *Bacillus thuringiensis* Berliner in vitro", Master's thesis, College of Education for Pure Sciences, Baghdad Ibn Al-Haytham University, (2015).
- [14] M. Ghannam, "Characterization of a local bacterium from *Bacillus* sp. Regulating its efficiency in controlling some insects of the order Lepidoptera", PhD thesis, Faculty of Agriculture, Damascus University, 111 p. (2017).

- [15] S. A.A. Al-Hayali, "Evaluation of the effectiveness of nanomaterials in the life of the southern cowpea beetle *Callosobruchus maculatus* (Fab.) (Coleoptera: Bruchidae)" Master Thesis, College of Education for Pure Sciences, University of Mosul. (2019).
- [16] M. Perez-Hedo, W. Goodman, C. Schafellner, A. Martini, Sehnal, and F. Eizaguirre, "Control of larval-pupal-adult molt in the moth *Sesamia nonagrioides* by juvenile hormone and ecdysteroids". *J. of insect physiology*, 57:602-607. (2011).
- [17] A. K. Chakravarthy; S. B. Chandrashekaraiyan; B. Kandakoor; K. Dhanabala; K. P. Gurunatha, "RameshBio efficacy of inorganic nanoparticles cds, Nano_Ag and Nano_TiO₂ *Spodoptera litura* (fabricins) (Lepidoptera: Noctuidae)". *Current biotica*, 6(3):271-281. (2012).
- [18] A. M., Shaker, A. H., Zaki, E. F., Abdelrahim, & M. H. Khedr, Comparative study of the entomotoxic effect of SiO₂+ TiO₂, CuO+ TiO₂ and ZnO+ TiO₂ nanoparticles mixtures against *Spodoptera littoralis*. *Academia Journal of Agricultural Research*, 6(5 Conference Proceedings), 122-132. (2018).
- [19] Y. Carriere, A. M. Showalter, J. A. Fabrick, J. Sollome, C. Ellers Kirk, and B. E. Tabashnik. "Cadherin gene expression and effects of Bt resistance on sperm transfer in pink bollworm". *Journal of insect physiology*, 55:1058-1064, (2009).
- [20] T., Basedow, M. Ahmed, B. Tadesse and H. El-Shafie. " *Galleria mellonella* L. and *Spodoptera exigua*: differences in effects of Xen Tari® (*Bacillus thuringiensis aizawai*), Neem Azal TLS® and their combinations on survival". *Mitt. Dtsch. Allg. Ziter schrift Angew. Entomology*, 16: 365-368, (2008).