دراسة تأثير المستحضر النانوي المحضراحيائيا بوساطة الفطر *Metarhizium anisopliae* على سلوك التغذية و بعض العوامل المؤثرة فسلجيا في حياتية بالغات حشرة الصرصر الامريكي *Periplaneta americana*

(1) محمد شاکر منصور
(1) جامعة تكريت – كلية الزراعة- قسم وقاية النبات
(2) وزارة التربية - المديرية العامة لتربية صلاح الدين – قسم تربية يثرب
(1)Mail: mshmansor@tu.edu.iq
(2) Mail : waledibrahimgharib72iq@gmail.com

المستخلص

بينت الدراسة وجود تأثير واضح على سلوك التغذية لحوريات العمر الاخير لحشرة الصرصر الامريكي *Periplaneta americana* اذ اثارالمستحضر النانوي الناتج من معاملة الفطر *Metarhizium anisopliae* بنترات الفضة بشكل كبير على سلوك التغذية في الحشرة اذ كانت كمية الغذاء المستهلك اليومي اقل من 0.02 غم / حشرة خلال اليوم الثاني للمعاملة، بينما كانت كمية الغذاء المستهلك 0.08 غم / حشرة بالنسبة لمعاملة المستحضر النانوي لاوكسيد الزنك في اليوم الثاني للمعاملة في حين كان مقدار الغذاء المستهلك 0.11 غم / حشرة بالنسبة لمعاملة السيطرة وانخفض مقدار الغذاء المستهلك في اليوم الثالث ليكون 0 ، 0.02 ، 0.08 غم/ حشرة لمعاملة المستحضر النانوي لنترات الفضة والمستحضر النانوي لاوكسيد الزنك ومعاملة السيطرة على التوالي وتراوحت كمية الغذاء المستهلك بين صعود ونزول خلال الايام الستة التالية من المعاملة وفي اليوم العاشر كان مقدار الغذاء المستهلك 0، 0.03 ، 0.062 غم/ حشرة على التوالي . كما بينت الدراسة وجود تأثير للمستحضر النانوي لنترات الفضة على النسبة المئوية في جسم الحشرة لبالغات حشرة الصرصر الامريكي اذ سجلت التراكيز 0.125، 0.250، 0.500 mg/1 67.61 % ، 66.34 % ، 65.48 % على التوالي بينما سجلت معاملة السيطرة 68.47 % . اما بالنسبة للمستحضر النانوي المحضر باستخدام اوكسيد الزنك فقد سجلت التراكيز اعلاه 68.21 ، 67.87 ، 67.58 % على التوالي في حين سجلت معاملة السيطرة 97 % . وبينت الدراسة ايضا وجود تأثير للمستحضر النانوي لنترات الفضة على تركيز الاملاح في القناة الهضمية لبالغات حشرة الصرصر الامريكي اذ سجلت التراكيز 0.125، 0.250 ، 0.500 mg/1 92 ، 85 ، 73 ppm على التوالي بينما كانت معاملة السيطرة 98 ppm . اما بالنسبة للمستحضر النانوي المحضر باستخدام اوكسيد الزنك فقد سجلت التراكيز اعلاه 99 ، 100.33 ، 102 ppm على التوالي في حين سجلت معاملة السيطرة 97 ppm . وبينت الدراسة وجود تأثير للمستحضر النانوي لنترات الفضة على الاس الهيدروجيني في القناة الهضمية لبالغات حشرة الصرصر الامريكي اذ سجلت التراكيز 0.125، 0.250 ، 0.500 mg/1 7.01 ، 7.08 ، 7.16 على التوالي بينما سجلت معاملة السيطرة 6.97 . اما بالنسبة للمستحضر النانوي المحضر باستخدام اوكسيد الزنك فقد سجلت التراكيز اعلاه 6.96 ، 7.09 ، 7.14 على التوالي في حين سجلت معاملة السيطرة 6.97 .

كلمات الدلالة ، المبيدات النانوية ، الفطر *Metarhizium anisopliae* ، الصرصر الامريكي، *Periplaneta americana* ، سلوك التغذية ، العوامل الفسلجية.

Study of the effect of a bio-prepared nano-preparation mediated by the fungus *Metarhizium anisopliae* on feeding behavior and some factors that physiologically influence the life of adults of the American cockroach *Periplaneta Americana*

Muhammad Shaker Mansour⁽¹⁾ Walid Ibrahim Gharib⁽²⁾

⁽¹⁾ Tikrit University - College of Agriculture - Department of Plant Protection

⁽²⁾Ministry of Education - General Directorate of Salah al-Din Education -
Yathrib Education Department

⁽¹⁾Mail: mshmanson@tu.edu.iq

⁽²⁾ Mail : waledibrahimgharib72iq@gmail.com

Abstract

The study showed a clear effect on the feeding behavior of the last instar nymphs of the American cockroach *Periplaneta americana*, as the nano-preparation resulting from the treatment of the fungus *Metarhizium anisopliae* with silver nitrate significantly affected the feeding behavior of the insect, as the amount of daily food consumed was less than 0.02 g/insect during the second day of the treatment, while the amount of food consumed was 0.08 g/insect for the treatment of the nano-preparation of zinc oxide on the second day of the treatment, while the amount of food consumed was 0.11 g/insect for the control treatment, and the amount of food consumed decreased on the third day to be 0, 0.02, 0.08 g/insect for the treatment of the nano-preparation of silver nitrate, the nano-preparation of zinc oxide, and the control treatment, respectively, The amount of food consumed ranged between rising and falling during the next six days of treatment. On the tenth day, the amount of food consumed was 0, 0.03, and 0.062 g/insect, respectively. The study also showed the effect of the nano-preparation of silver nitrate on the percentage of adult American cockroaches in the insect body, as the concentrations of 0.125, 0.250, and 0.500 mg/l recorded 67.61%, 66.34%, and 65.48%, respectively, while the control treatment recorded 68.47%. As for the nano-preparation prepared using zinc oxide, the above concentrations were recorded 68.21, 67.87, and 67.58%, respectively, while the control treatment recorded 97%. The study also showed the effect of the nano-preparation of silver nitrate on the concentration of salts in the digestive tract of adult American cockroaches, as the concentrations were recorded as 0.125, 0.250, 0.500 mg/l 92, 85, 73 ppm respectively, while the control treatment was 98 ppm. As for the nano-preparation prepared using zinc oxide, the above concentrations were recorded as 99, 100.33, 102 ppm respectively, while the control treatment was recorded as 97 ppm. The study showed the effect of the nano-preparation of silver nitrate on the pH in the digestive tract of adult American cockroaches, as the concentrations were recorded as 0.125, 0.250, 0.500 mg/l 7.01, 7.08, 7.16 respectively, while the control treatment was recorded as 6.97. As for the nano-preparation prepared using zinc oxide, the above concentrations were recorded as 6.96, 7.09, 7.14 respectively, while the control treatment recorded 6.97.

Keywords: nanopesticides, *Metarhizium anisopliae*, American cockroach, *Periplaneta americana*, feeding behavior, physiological factors.

1. المقدمة

تعد عملية استخدام المبيدات الكيميائية ضد الحشرات من أكثر الطرق التي تشكل خطراً كبيراً على البيئة وصحة الإنسان حيث تعد مصدراً من مصادر التلوث البيئي (Namasivayam وآخرون ، 2018) لذلك تم استخدام الجسيمات النانوية بديلاً وتحضيره بطريقة صديقة للبيئة وفعالة في مكافحة الحشرات الناقلة للأمراض ، حيث تمتلك هذه الجسيمات قدرة عالية للتأثير في حياتية الآفات الحشرية (Jianhui وآخرون ، 2022). وتعد تقنية النانو جديدة نوعاً ما ، لكنها ليست بأي حال المجال الوحيد المعني بالذرات والجزيئات. إذ تعاملت علوم الفيزياء والكيمياء والبيولوجيا منذ فترة طويلة بطرق مختلفة مع الذرات والجزيئات وسلوكها على سبيل المثال ميكانيكا الكم باعتبارها علمًا متقدمًا في مجال الأبعاد الدقيقة (Giampiero وآخرون ، 2015). إن أفضل مثال بيولوجي معروف في هذا المجال هو الريبوسوم ، وهو جسيم نانوي يكمن دوره في تصنيع البروتينات عن طريق الجمع بين الأحماض الأمينية معًا بترتيب محدد جدًا بسلاسل خطية من الأحماض الأمينية الطويلة ، والذي ينتج بعد ذلك هيكل بروتينية ثلاثية الأبعاد. مثال آخر على دور الهياكل النانوية هو التمثيل الضوئي الذي يحدث داخل البلاستيدات الخضراء. بمساعدة مادة التمثيل الضوئي الكلوروفيل الذي يمكن الخلية النباتية من أخذ ثاني أكسيد الكربون والماء بمساعدة طاقة الشمس وتحويلها إلى السكر الكلوكوز والأوكسجين (Jessica ، 2022).

في الوقت الحاضر، توفر NPs خيارًا جديدًا للتحكم في النواقل المرضية مع تطور تكنولوجيا النانو إذ يتم استخدام تقنية النانو بشكل متزايد في مجالات إنتاج المبيدات الحشرية وإدارة الآفات (Santos وآخرون ، 2021) ويمكن استخدام NPs ضد الحشرات التي تنتقل الأمراض مثل داء الليشمانيات بالإضافة إلى البعوض الذي ينقل مسبب مرض التهاب الدماغ. وقد ثبت أن جزيئات الألومينا والسيليكا والزنك والفضة النانوية لها تأثير كبير في مكافحة آفات الحبوب المخزنة والتي تعد من بين أكثر الآفات التي تسبب صعوبات كبيرة في برامج مكافحة عند دمجها مع مواد كيميائية أخرى (Stadler وآخرون ، 2017).

بشكل عام ، يتم إنتاج الجسيمات النانوية من خلال طرق طبيعية وصناعية (علوش ، 2020) يعتبر إنتاج الجسيمات النانوية المصممة في البيئة أكثر خطورة من المعتاد. بسبب تغيير في الخصائص المختلفة للجسيمات النانوية ، مثل قابليتها على الذوبان والسمية الكيميائية (salwa وآخرون ، 2020) والجسيمات النانوية هي مواد جديدة قد لا يكون لدى البشر والكائنات الحية الأخرى آليات دفاع كافية عند دخولها جسم الكائن الحي (محمد ، 2017). إن عدم معرفة الناس بالسمية البيئية والتعرض لها ، قلة معرفة إدخال المواد النانوية في البيئة ونقلها إلى الإنسان ، عدم الإلمام بالمخاطر المتعلقة بالمواد النانوية ، وكيفية الوقاية منها تسبب خسائر للبيئة والمجتمعات البشرية (). يتم امتصاص الجسيمات النانوية بسرعة من خلال الجلد والأغشية المخاطية والجهاز التنفسي ، مما يتسبب في حدوث سموم جديدة وغير معروفة وبالتالي تهدد صحة الإنسان (Cristina وآخرون ، 2007).

إن المفتاح لفهم سمية الجسيمات النانوية هو أن حجمها الدقيق ، أصغر من الخلايا والعضيات الخلوية، يسمح لها باختراق هذه الهياكل البيولوجية الأساسية، مما يؤدي إلى تعطيل وظيفتها الطبيعية ومن الأمراض المرتبطة بالجسيمات النانوية: الربو، والتهاب الشعب الهوائية، وسرطان الرئة، وسرطان القولون (Zeljka وآخرون ، 2014)

تمتلك الكائنات المجهرية القدرة على تخليق الجسيمات النانوية و تشارك هذه الكائنات الدقيقة في التدوير البيوجيوكيميائي للمعادن في عمليات مثل الترسيب (التمعدن الحيوي) ، والتحلل (التعرق الحيوي) ، والتدهور (التآكل الحيوي). ويعتبر التخليق الحيوي للـ NPs بواسطة الميكروبات من وظائف آليات مقاومة سمية المعادن الثقيلة. وتتمثل آليات المقاومة بإنزيمات الأكسدة والاختزال التي تحول أيونات المعادن السامة إلى أشكال خاملة ، أو من خلال استخدام البروتينات التي تنقل أيونات المعادن عن طريق القوة المحركة للبروتون ، أو التحلل المائي لـ ATP. تستخدم البكتيريا والفطريات والفطريات الشعاعية

والطحالب في تكنولوجيا النانو ، وخاصة في تطوير عمليات موثوقة وصديقة للبيئة لتكوين الجسيمات النانوية المعدنية. يشير التنوع الميكروبي إلى إمكاناتها البيولوجية للعمل كمصانع حيوية محتملة لتخليق الجسيمات النانوية للكائنات الدقيقة القادرة على تخليق NPs منتشرة بشكل خاص في النظم البيئية الأرضية والبحرية. (Gadd 2010).

تستخدم الفطريات لتصنيع الجسيمات النانوية المعدنية مثل الجسيمات النانوية الفضية (AgNPs) بسبب مواصفاتها مثل انخفاض السمية والسلوك الصديق للبيئة وتنتج مواد نانوية داخل الخلايا وخارجها (محسن ، 2022). تضاف سلالات فطرية مختلفة إلى قائمة الأحياء التي يتم البحث عنها على نطاق واسع لمعرفة إمكانية اعتمادها في تحضير المواد النانوية (بامسعود ، 2017). تم التخليق الحيوي لجسيمات الفضة النانوية باستخدام فطر *Penicillium verrucosum*. عن طريق تفاعل نترات الفضة ($AgNO_3$) مع الترشيح الخالي من الخلايا في الوسط الزراعي الفطري ، ثم تم تمييزها بواسطة التحليل الطيفي المرئي للأشعة فوق البنفسجية ، و المجهر الإلكتروني ، المسح المجهر الإلكتروني ، تحليل تشتت الطاقة ، وتحليل حيود الأشعة السينية (Ahmed وآخرون ، 2023).

وحظي اوكسيد الزنك باهتمام متزايد في السنوات الأخيرة بسبب استقراره في ظل الظروف البيئية القاسية ولأن مركبات الزنك مدرجة في قائمة GRAS أي تعتبر بشكل عام غير سامة وآمنة من قبل إدارة الغذاء والدواء الأمريكية (الربيعي ، 2015) يستعمل اوكسيد الزنك النانوي ZnO-NPs في العديد من القطاعات الصناعية الطبية المختلفة مثل الأدوية ومستحضرات التجميل لدى ZnO-NPs تفاعل مباشر مع أغشية الخلايا المؤثرة على سطح الخلية، والتي تدخل الخلية بعد ذلك وتحفز الإجهاد التأكسدي في خلايا الكائنات الحية الدقيقة، مما يؤدي إلى تثبيط نمو الخلايا حتى موت الخلايا؛ وغالبًا ما تستخدم ZnO-NPs كعامل تطهير وتعقيم لأنواع المعدات والحاويات المستخدمة في صناعة الأغذية والتلوث بالميكروبات المسببة للأمراض المنقولة بالغذاء (AL-Tameemi، 2023).

2. المواد وطرائق العمل

لغرض اجراء الدراسة كان من الضروري جمع اعداد كبيرة من افراد الحشرة وتمت هذه العملية في بعض الاماكن مثل فتحات المجاري (المنهولات) واماكن تجمع القمامة قرب المنازل والمركز الصحي وبعض الدوائر مثل المدارس المنتشرة في ناحية يثرب وقضاء الدجيل وتم الاعتماد على المصائد المتوفرة في الاسواق المحلية وكذلك المصائد محلية الصنع .

1.2. المصائد المستعملة في جمع الحشرة

لغرض صيد وجمع الحشرات البالغة والحوريات تم استخدام مصيدة محلية الصنع تم صنعها باستخدام قناني المشروبات الغازية حجم 2 لتر قطع الجزء الاعلى منها وبعد ذلك وضع الجزء العلوي بشكل مقلوب بحيث يسمح بمرور الحشرات الى داخل المصيدة مع وضع بعض الطعوم المتمثلة ببقايا الاطعمة المنزلية مثل الخبز والخضراوات مثل الخيار والطماطم وقطع من الرقي وتركت داخل فتحات المجاري لمدة 24 ساعه بعد ذلك تم رفعها واحضارها الى المختبر.

2.2. تحضير صندوق التربية

تم صناعة صندوق خاص بتربية حشرة الصرصر الامريكي بشكل صندوق ذو هيكل مصنوع من الخشب مغلف بالسلك المشبك ابعاده (120سم*120سم*70سم) يحتوي على متبقيات لمواد مختلفة مثل مواد البناء كالتابوق وقطع السيراميك والخشب والكرتون وو وضع فيه مواد غذائية مختلفة مثل قطع من الخبز والفواكه والخراوات وزود بوعاء معدني يحتوي على الماء . تم الحفاظ على نظافتها مع الاهتمام بكنس الجزء السفلي من الصندوق من نفاياتها. تم جمع العينات من اماكن مختلفة وتم عزل حوريات الطور الرابع ووضعت داخل صندوق التربية .

3.2. تحضير الوحدات التجريبية

تم اعداد الوحدة التجريبية وهي عبارة عن صندوق خشبي ابعاده 30*30*40 سم محاط بمشبك معدني من جميع الجهات ومجهز بارضية من الخشب المعاكس ومزود بفتحة عليا ذات باب ابعاده 20*30 لغرض ادخال الحشرات وتزويدها بالمادة الغذائية والماء واجراء المعاملات حسب متطلبات التجربة .

4.2. دراسة سلوك التغذية

لدراسة سلوك التغذية في الخشرة تم تجهيز ثلاث صناديق كل صندوق يحتوي على قطع من الطابوق والحجارة لخلق بيئة صناعية للخشرة ووضع في كل صندوق 10 حشرات (العمر الحوري الاخير) ووضع في كل صندوق طبق بتري يحتوي على المادة الغذائية واخر يحتوي على الماء (يجهز بالماء يوميا) وضع في الصندوق الاول مادة غذائية عبارة عن (بسكويط مطحون) مضاف الى محلول المستحضر النانوي لنترات الفضة بتركيز 500 ملغم/ 1 لتر والصندوق الثاني يحتوي على مادة غذائية معاملة محلول المستحضر النانوي لأكسيد الزنك والصندوق الثالث يحتوي على مادة غذائية معاملة بالماء المقطر (معاملة السيطرة) ووضعت الصناديق الثلاث تحت المراقبة داخل المختبر ويتم اخذ وزن الغذاء يوميا وحساب مقدار استهلاك الحشرة الواحدة من خلال حساب الفرق بين القراءة السابقة والقراءة اللاحقة والتقسيم علة 10 (عدد الحشرات في الصندوق) . تم تسجيل القراءات في جداول خاصة .

5.2. قياس نسبة الاملاح والحامضية

تم تشريح الحشرة البالغة بواسطة عدة التشريح الخاصة بالحشرات وذلك من خلال تثبيت الحشرة على قطعة من الفلين باستخدام الدبابيس على اطراف جسم الحشرة وذلك لتلافي حدوث ضرر في القناة الهضمية بحيث تكون الجهة البطنية الى الاعلى تم قص الارجل من مفصل اتصاله بالجسم وبعد ذلك عمل شق طولي بأستخدام مشرط خاص بتشريح الحشرات من الجهة البطنية وتنظيف الاحشاء الداخلية من السائل الجسمي حيث ظهرت القناة الهضمية واضحة تحت المجهر الضوئي وتم بعد ذلك قصها من جهة الراس ومن مؤخرة الحشرة بواسطة مقص خاص ثم سحبت بواسطة ملقط خاص ثم وضعت في دورق زجاجي يحتوي على ماء مقطر ثم افرغت محتوياتها داخل الدورق ثم اخذت القراءات الخاصة بنسبة الاملاح بواسطة جهاز TDS بينما اخذت قراءات الـ ph باستخدام Ph meter . اذ تتم معايرة الجهاز بوضع 250 مل من الماء المقطر داخل دورق زجاجي سعة 500 مل ثم يوضع فيه مسحوق بفر 6.86 ثم التحريك لمدة ثلاث دقائق لضمان ذوبان البفر وضع الجهاز على زر call لتثبيت القراءة وبعد ذلك اخراج الجهاز من محلول بفر بعد استقرار القراءة على 6.86 . كررت العملية على محلول بفر 4.0 واعيدت نفس الخطوات السابقة وبذلك تم معايرة جهاز phmeter .

6.2. حساب النسبة المئوية للمحتوى المائي في جدار جسم الحشرة

تم اخذ مجاميع من الحشرات البالغة (10 حشرات) لكل معاملة بالاضافة الى معاملة السيطرة) وضعت كل مجموعة بشكل مستقل داخل قنينة زجاجية ثم اضيف اليها كمية من الكحول لغرض القتل تركت لمدة 15 دقيقة للتأكد من موتها ثم قطع الرأس و الاجزاء الخارجية الاجنحة وقرون الاستشعار والارجل بعد ذلك تم عمل شق طولي من الجهة البطنية باستخدام مشرط ومقص خاص بالتشريح .وزنت النماذج ثم وضعت في طبق بتري داخل الحاضنة على 45 درجة مئوية ل 24 ساعة حيث يتم اخذ القراءة الاولى ثم وضعت في الحاضنة ل 24 ساعة اخرى ويتم وزن العينة ثم توضع مرة ثالثة واخذ القراءة لحين ثبات الوزن.

7.2. تحضير المادة النانوية

تم تحضير المادة النانوية عن طريق الفطر *Metarhizium anisopliae* بعد المعاملة بنترات الفضة واوكسيد الزنك. ولتحضير جسيمات الفضة النانوية تم اولا تحضير محلول نترات الفضة $AgNO_3$ بتركيز 1mm عن طريق اذابه 0.017g من نترات الفضة في 100ml من الماء المقطر المعقم ومزج جيدا وحفظ في قناني معتمه لمنع تأثرها بالضوء لوقت استخدامها (Karbasiان وآخرون، 2008). ولتكوين الجسيمات النانوية حيويًا من الفطر *Metarhizium anisopliae* بعد تكون الحصيرة الفطرية وترشح الكتلة الفطرية باستخدام ورق ترشيح معقم وتغسل جيدا بالماء المقطر المعقم، ثم وضعت في دورق مخروطي سعة 500ml يحتوي على 100ml من الماء المقطر المعقم، تم تحضير الدورق لمدة 72 ساعة وترشح الكتلة الفطرية مرة أخرى باستخدام ورق الترشيح المعقم للتأكد من إزالة جميع مكونات الوسط، بعدها يوزن 10g من الكتلة الفطرية ثم توضع في 100ml من محلول نترات الفضة $AgNO_3$ المحضر بتركيز 1mm وتوضع في الحاضنة في ظروف مظلمة تماما. وبعد انتهاء الفتره نقوم بترشيح الكتلة الحيوية مرة ثانية باستخدام ورق الترشيح وبعد ذلك اجراء عملية الطرد المركزي بمعدل 6000 دوره بالدقيقة ولمده 10 دقائق، اخذ 100ml من راسح الكتلة الحيوية للفطر واضيف 100ml من محلول نترات الفضة $AgNO_3$ بتركيز 1mm والذي تم تحضيره سابقا، إذ تركت 100ml من الراشح للمقارنه والاختبارات الاخرى، وضعت جميع الدورق في الحاضنة الهزاز وعند سرعه 100 دورة بالدقيقة بدرجه حراره $25-26$ م تحت ظروف مظلمه لمدة 96 ساعه (Saratale وآخرون، 2017). وللتأكد من تكون جسيمات الفضة النانوية (AgNPs) حيويًا خارج الخلية باستخدام وسط زرع سائل للفطر *Metarhizium anisopliae*، كان تغير اللون هو الدليل على تكون جسيمات AgNPs، كما تم استخدام المجهر الإلكتروني وحيود الأشعة السينية للكشف عن هذه الجسيمات.

تم إنتاج الجسيمات النانوية (ZnO-NPs) داخل الخلايا بواسطة الفطر والكتلة الحيوية المعزولة من خلال زراعة فطر في مرق خميرة جلوكوز الشعير (MGYP) المكون من مستخلص الخميرة ومستخلص الشعير 0.3% لكل منهما، الجلوكوز 1% ، البيبتون 0.5% . تمت زراعة الفطر في دورق مخروطي سعة 250ml يحتوي على 50ml وسط سائل يحتوي على (KH_2PO_4 ، 1g غم)، (K_2HPO_4 ، 7g غم)، ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ، 4g غم) ($(NH_4)_2SO_4$ ، 1g غم)، (خميرة، 1g غم)، (كلوكوز، 15g غم) تم تحضير الوسط الملقح عند درجة حرارة 28 ± 2 درجة مئوية و 180 دورة في الدقيقة لمدة 5 أيام، وبعد ذلك تم فصل الكتلة الحيوية للفطر باستخدام ورق ترشيح Whatman رقم 1 وغسلها على نطاق واسع بالماء منزوع الأيونات. تم نقل الكتلة الحيوية الفطرية المجمعة إلى 100ml من الماء منزوع الأيونات في دورق مخروطي سعة 250ml وتم تحضيرها أيضًا عند 140 دورة في الدقيقة لمدة 72 ساعة، تم ترشيح الكتلة الحيوية للفطر مرة أخرى باستخدام ورق ترشيح Whatman رقم 2 وتم إخضاع المرشح الخالي من الخلايا المجمع للتخليق الحيوي لجسيمات أكسيد الزنك النانوية. تمت إضافة 10ml من ملح $ZnSO_4$ إلى 10ml راسح من كل فطر وضبط الرقم الهيدروجيني إلى 6.5 وحضنت في جهاز الطرد المركزي لمدة 150 دورة في الدقيقة عند 32 درجة مئوية لمدة 72 ساعة، في حالة مظلمة. وأشار ترسب الراسب الأبيض في الجزء السفلي من القارورة إلى تكوين الجسيمات النانوية (Mona وآخرون، 2019).

حضر محلول نترات الفضة عن طريق اذابه 2.4g من نترات الفضة في 100ml من الماء الايوني (قابلية الاذابة للماء الايوني اعلى من الماء المقطر) تم التسخين على $37-40$ م (حتى لاتموت الخلايا الحية) ومزج جيدا وحفظ في قناني معتمه لمنع تأثرها بالضوء لوقت استخدامها (Karbasiان وآخرون، 2008).

النتائج والمناقشة

اولا : تأثير المستحضر النانوي المحضر باستخدام الفطر *Metarhizium anisopliae* على سلوك التغذية لحوريات الطور الرابع لحشرة الصرصر الامريكي.

اظهرت النتائج (شكل 1) وجود تأثير واضح على سلوك التغذية لحوريات العمر الاخير لحشرة الصرصر الامريكي اذ اثار المستحضر النانوي الناتج من معاملة الفطر *Metarhizium anisopliae* ببنترات الفضة بشكل كبير اذ كانت كمية الغذاء المستهلك اليومي اقل من 0.02 غم / حشرة خلال اليوم الثاني للمعاملة، بينما كانت كمية الغذاء المستهلك 0.08 غم / حشرة بالنسبة لمعاملة المستحضر النانوي لأكسيد الزنك في اليوم الثاني للمعاملة في حين كان مقدار الغذاء المستهلك 0.11 غم / حشرة بالنسبة لمعاملة السيطرة وانخفض مقدار الغذاء المستهلك في اليوم الثالث ليكون 0 ، 0.02 ، 0.08 غم/ حشرة لمعاملة المستحضر النانوي لنترات الفضة والمستحضر النانوي لأكسيد الزنك ومعاملة السيطرة على التوالي وتراوحت كمية الغذاء المستهلك بين صعود ونزول خلال الايام الستة التالية من المعاملة وفي اليوم العاشر كان مقدار الغذاء المستهلك 0، 0.03، 0.062 غم/ حشرة على التوالي .

شكل 1 تأثير المستحضر النانوي المحضر باستخدام الفطر *Metarhizium anisopliae* على سلوك التغذية لحوريات العمر الاخير لحشرة الصرصر الامريكي.

ثانيا . تأثير المستحضر النانوي المحضر باستخدام الفطر *Metarhizium anisopliae* على بعض العوامل الفسلجية المؤثرة في حياتية بالغات حشرة الصرصر الامريكي.

1.2 تأثير المستحضر النانوي المحضر باستخدام الفطر *Metarhizium anisopliae* على المحتوى المائي في حياتية بالغات حشرة الصرصر الامريكي.

جدول 1 : تأثير تراكيز مختلفة للمستحضر النانوي المحضر احيائيا باستخدام الفطر *Metarhizium anisopliae* المعامل ببنترات الفضة و اوكسيد الزنك على النسبة المئوية للمحتوى المائي في جسم بالغات حشرة الصرصر الامريكي .

الانحراف المعياري	الخطأ المعياري للمتوسط	معامل التباين المشترك	التباين	المتوسط الحسابي	%المحتوى المائي		المواد المستخدمة التركيز mg/l
					مستحضر اوكسيد الزنك	مستحضر نترات الفضة	
0.3294	0.1345	0.0	0.1085	67.91	68.21	67.61	0.125
0.8393	0.3426	0.1	0.7045	67.105	67.87	66.34	0.250

1.1507	0.4697	0.02	1.3242	66.53	67.58	65.48	0.500
0.4279	0.3156	0.04	0.7124	67.18	67.88	66.47	المتوسط الحسابي
0.061	0.03	0.00	0.00	68.49	68.47	68.47	control
* يمثل معدل ثلاث مكررات							

تشير نتائج الجدول (1) وجود تأثير للمستحضر النانوي لنترات الفضة على النسبة المئوية للمحتوى المائي في جسم بالغات حشرة الصرصر الامريكي . اذ سجلت التراكيز 0.125، 0.250 ، 0.500 mg/l ، 67.61 ، 66.34 ، 65.48 % على التوالي بينما كانت معاملة السيطرة 68.47 % . اما بالنسبة للمستحضر النانوي المحضر باستخدام اوكسيد الزنك فقد سجلت التراكيز اعلاه 68.21 ، 67.87 ، 67.58 % على التوالي في حين سجلت معاملة السيطرة 68.47 % .

2.2. تأثير المستحضر النانوي المحضر باستخدام الفطر *Metarhizium anisopliae* على تركيز الاملاح في القناة الهضمية لبالغات حشرة الصرصر الامريكي.

جدول 2 : تأثير تراكيز مختلفة للمستحضر النانوي المحضر احيائيا باستخدام الفطر *Metarhizium anisopliae* المعامل بنترات الفضة واوكسيد الزنك على تركيز الاملاح

في القناة الهضمية لبالغات حشرة الصرصر الامريكي

الانحراف المعياري	الخطأ المعياري للمتوسط	معامل التباين المشترك	التباين	المتوسط الحسابي	نسبة الاملاح ppm		المواد المستخدمة التركيز mg/l
					مستحضر اوكسيد الزنك	مستحضر نترات الفضة	
4.544	2.032	0.04	20.65	95.5	99	92	0.125
8.524	3.480	0.09	72.66	92.66	100.33	85	0.250
15.39	6.50	0.18	253.9	87.5	102	73	0.500
9.489	4.004	0.103	115.73	91.88	100.44	83.33	المتوسط الحسابي
1.37	0.562	0.01	1.9	97.5	97	98	control
* يمثل معدل ثلاث مكررات							

تشير نتائج الجدول (2) وجود تأثير للمستحضر النانوي لنترات الفضة على تركيز الاملاح في القناة الهضمية لبالغات حشرة الصرصر الامريكي اذ سجلت التراكيز 0.125، 0.250 ، 0.500 mg/l ، 92 ، 85 ppm على التوالي بينما كانت معاملة السيطرة 98 ppm . اما بالنسبة للمستحضر النانوي المحضر باستخدام اوكسيد الزنك فقد سجلت التراكيز اعلاه 99 ، 100.33 ، 102 ppm على التوالي في حين سجلت معاملة السيطرة 97 ppm .

3.2. تأثير المستحضر النانوي المحضر باستخدام الفطر *Metarhizium anisopliae* على الاس الهيدروجيني PH في القناة الهضمية لبالغات حشرة الصرصر الامريكي.

جدول 3 : تأثير تراكيز مختلفة للمادة النانوية المحضرة احيائيا باستخدام الفطر *Metarhizium anisopliae* المعامل بنترات الفضة واوكسيد الزنك على الاس الهيدروجيني PH في القناة الهضمية لبالغات حشرة الصرصر الامريكي.

الانحراف المعياري	الخطأ المعياري للمتوسط	معامل التباين المشترك	التباين	المتوسط الحسابي	PH		المواد المستخدمة التركيز mg/l
					مستحضر اوكسيد الزنك	مستحضر نترات الفضة	
0.1046	0.0427	0.01	0.0109	7.03	*6.96	*7.1	0.125
0.3941	0.1609	0.05	0.1553	7.085	7.09	7.08	0.250
0.0316	0.0129	0.01	0.001	7.15	7.14	7.16	0.500
0.2715	0.0721	0.023	0.0557	7.088	7.06	7.11	المتوسط الحسابي
0.1420	0.0580	0.01	0.0201	6.97	6.97	6.97	control
* يمثل معدل ثلاث مكررات							

تشير نتائج الجدول (3) وجود تأثير للمستحضر النانوي لنترات الفضة على الاس الهيدروجيني في القناة الهضمية لبالغات حشرة الصرصر الامريكي اذ سجلت التراكيز 0.125، 0.250، 0.500، 7.1 mg/l ، 7.08 ، 7.16 ، على التوالي بينما سجلت معاملة السيطرة 6.97 . اما بالنسبة للمستحضر النانوي المحضر باستخدام اوكسيد الزنك فقد سجلت التراكيز اعلاه 6.96 ، 7.09 ، 7.14 ، على التوالي في حين سجلت معاملة السيطرة 6.97 .

المصادر

المصادر العربية

بامسعود ، سالم فرج و باحويرث ، محروس عبدالله (2017) تأثير جزيئات الفضة النانوية المحضرة باستخدام مستخلص أوراق المريمية *Azadirachta indica* والسيبان *Prosopis juliflora* في إنبات ونمونات الكوسة *Cucurbita Pepo* ، مجلة الجامعة العربية الأمريكية للبحوث، مجلد (3) العدد (2): 471-441 .

الربيعي ، حسين فاضل والجبوري عبد الجاسم محيسن (2015) تقنيات النانو في الغذاء والزراعة ،المجلة العراقية للعلوم والتكنولوجيا .مجلد3 العدد 3 : ص .

علوش ، ميساء توفيق. (2020). التخليق للجسيمات النانوية و تطبيقاتها في مجال مكافحة الآفات الزراعية: دراسة مرجعية. مجلة وقاية النبات العربية ، مج. 38 ، ع. 4 ، ص ص. 267-280.

محسن ،لقاء يحيى ، ليلو ،رفل احمد وعلوان ، زينه هادي عبيد (2022) التوصيف والنشاط المضاد للفطريات لجسيمات الفضة النانوية التي تتوسطها الفطريات .مجلة جامعة بابل للعلوم الصرفة والتطبيقية . المجلد 30 ؛ رقم 2 . ص 153-160 .

محمد ، ميرفت رشاد أحمد وعلي ، إيمن جابر حسونة (2017)التطبيقات البيئية الخضراء لتكنولوجيا النانو في المستقبل، المؤتمر الدولي السابع للاتحاد العربي للتنمية المستدامة والبيئة (سبل تعزيز التكنولوجيا النظيفة والتقنيات الصديقة للبيئة في المنطقة العربية في الفترة 19-20 نوفمبر 2017 ، جامعة عين شمس .

المصادر الاجنبية

Ahmed, T., M. Shahid, M. Noman, M.B.K. Niazi, F. Mahmood, I. Manzoor, Y. Zhang, B. Li, Y. Yang, and C. Yan. 2020. Silver Nanoparticles Synthesized by Using *Bacillus cereus* SZT1 Ameliorated the Damage of Bacterial Leaf Blight Pathogen in Rice. *Pathogens*, 9: 1-17.

AL-Tameemi (2023) Antibacterial properties of zinc oxide nanoparticles synthesized by the supernatant of *Weissella confusa* upm22mt04. *Iraqi Journal of Agricultural Sciences*, 2023, Volume 54, Issue 5, Pages 1209-1222.

Cristina Buzea, Ivan I. Pacheco & Kevin Robbiec (2007) Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity, *Biointerphases*, Vol. 2, No. 4, 1-23

Gadd GM (2010) Minerals, minerals and microbes, geomicrobiology and bioremediation, *Microbiology* 156: 609-643

Giampiero .E, Giuseppe .M, Gennaro. M, George. S .(2015) *Advanced Concepts in Quantum Mechanics*. Publisher: Cambridge University Press ISBN: 9781107076044.

Jessica. J, Hurtado.R, Ulises .C. N, Julio. C. A and Edith P. (2022). Ribosomes: The New Role of Ribosomal Proteins as Natural Antimicrobials. *Published Sci*. 2022 Aug; 23(16): 9123.

Jianhui W.U, Cailian. D.U, Jieming Zhang, Bo Yang, Andrew G. S. Cuthbertson and Shaukat Ali (2022). Synthesis of *Metarhizium anisopliae*-Chitosan Nanoparticles and Their Pathogenicity against *Plutella xylostella* Linnaeus, *Microorganisms* 2022, 10(1), 1; <https://doi.org/10.3390/microorganisms10010001>.

Joshi, H.; Dave, R. Venugopalan, F.P.(2014). Iron infusion to maintain physical fitness: Modulation of siderophore secretion aids effective aromatase utilization in *Pseudomonas Putida* Kt2440. *Microbiology* 160, 1393-1400. [Google Scholar] [CrossRef].

Karbasian M., Atyabi S., Siadat S., Momen S., Norouzi D. (2008). Optimizing nano-silver formation by *Fusarium oxysporum* PTCC 5115 employing response surface methodology. *Am. J. Agric. Biol. Sci.* 3 433-437. 10.3844/ajabssp.2008.433.437 [CrossRef] [Google Scholar].

Mona. h , Fatma el-zamek ,H. abd el-fattah, Samir M (2019) biosynthesis of zinc nanoparticles using culture filtrates of *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* fungal species and their antibacterial properties against gram-positive and gram-negative bacteria *Zagazig Journal of Agricultural Research* 46(6):2009-2021.

Namasivayam, S.K.R.; Bharani, R.S.A.; Karunamoorthy, K. Insecticidal fungal metabolites fabricated chitosan naocomposite (IM-CNC) preparation for the enhanced larvicidal activity—An effective strategy for green pesticide against economically important insect pests. *Int. J. Biol. Macromol.* 2018, 120, 921–944. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]

salwa s. rashed, gary w. beall, eman m. rashed and wageha a. mostafa (2020) control of human filarial vector, *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) through combination of the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* and nanoparticles of zinc oxide and aluminum oxide *J. Egypt. Soc. Parasitol. (JESP)*, 50(2), 2020: 221-227

Santos, T.S.; Dos Passos, E.M.; De Jesus Seabra, M.J.; Soto, E.B. Severino, B. da Costa Mendonça, M. (2021) Biomass production of entomopathogenic fungi and extracellular biosynthesis of silver nanoparticles for biocidal action. application. *Science Fiction*. 11, 2465. [Google Scholar] [Cross].

Saratale R.G., Benelli G., Kumar G., Kim D.S., Saratale G.D. Exploiting fruit by products for eco-friendly nanosynthesis: Citrus × clementina peel extract mediated fabrication of silver nanoparticles with high efficacy against microbial pathogens and rat glial tumor C6 cells. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2017;25:10392–10406. [PubMed] [Google Scholar].

Stadler, T., Buteler, M., Weaver, D.K. (2010). Novel use of nanostructured alumina as an insecticide. *Pest Manag. Sci.* 66(6), 577–9.

Wang, X.; Xu, J.; Sun, T.; Ali, S. Synthesis of Cordyceps fumosorosea-biochar nanoparticles and their effects on growth and survival of Bemisia tabaci (Gennadius). *Front. Microbiol.* 2021, 12, 630220. [Google Scholar] [CrossRef]

Zafar, J.; Shoukat, R.F.; Zhang, Y.; Freed, S.; Xu, X.X.; Jin, F. Metarhizium anisopliae challenges immunity and demography of Plutella xylostella. *Insects* 2020, 11, 694. [Google Scholar] [CrossRef]

Zeljka Krpetic Sergio Anguissola David Garry Philip Kelly.(2014). Nanomaterials: Impact on Cells and Cell Organelles. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 811:135-156. DOI:10.1007/978-94-017-8739-0_8.