دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اراک
شاپا ٤٦٦٨-٢٠٠٨
http://jer.iau-arak.ac.ir

فصلنامه تخصصی تحقیقات حشره‌شناسی
(علمی- پژوهشی)
جلد ۱۳، شماره۳، سال ۱٤۰۰، (۱۹۵-۱۷۷)

بررسی تاثیر نانو ذرات سیلیکا توام با قارچ بیماری زای Beauveria bassiana روی سفیدبالک گلخانه Trialeurodes vaporariorum Westwood

سیدکاظم واحدی[۱]، عباس حسین زاده[۲*]، اکبر قاسمی کهریزه[۲]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه گیاهپزشکی، واحد مهاباد، دانشگاه آزاد اسلامی، مهاباد، ایران
۲- استادیار، گروه گیاهپزشکی، واحد مهاباد، دانشگاه آزاد اسلامی، مهاباد، ایران

چکیده

سفیدبالک گلخانه به عنوان یک آفت اقتصادی، دارای دامنه میزبانی وسیع و همه جازی بوده و روی بسیاری از گیاهان زراعی از جمله گیاهان گلخانه ای خسارت فراوانی به بار می آورد. به دلیل ویژگی‌های مرفولوژیکی و پتانسیل مقاومت به سموم شیمیایی، یافتن ترکیبات مناسب و سازگار جهت کنترل تلفیقی این آفت با افزایش میزان تاثیر و کمترین اثر سوء را روی قارچ بیماری زای *Beauveria bassiana* داشته باشد ضرورت دارد.

روشها: در این مقاله اثر قارچ بیمارگر *Beauveria bassiana* به تنهایی و در اختلاط با نانو ذرات سیلیکا علیه تخم و پوره سن دوم سفیدبالک گلخانه Westwood *Trialeurodes vaporariorum* و قدرت جوانه زنی قارچ بیمارگر، با بهره گیری از روشهای تجزیه پروبیت ، تجزیه واریانس ANOVA یک طرفه و نرم افزار SPSS مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها: مقادیر LC_{50} حاصل از تجزیه پروبیت در نتیجه‌ی تاثیر غلظت‌های مختلف نانو ذره سیلیکا و قارچ *Beauveria bassiana* علیه تخم بعد از ۷ روز و علیه پوره سن دوم سفیدبالک بعد از ۷۲ ساعت به ترتیب (643/97 میلی گرم بر لیتر و ۱۷۰۳۹۹ کنیدی در میلی لیتر) و (۶۰۲/۹۵ میلی گرم بر لیتر و ۷۸۳۷۹ کنیدی در میلی لیتر) بدست آمد.

نتایج: با توجه به نتایج مقاله حاضر نانوذرات سیلیکا به تنهایی سمیت بالاتری نسبت به بقیه تیمارها و هم بصورت ترکیبی با قارچ *B. bassiana* میتواند در کنترل تلفیقی آفت مهم سفیدبالک گلخانه بکار رود. مهمترین مزیت استفاده از این ترکیبات سازگار بودن آنها با محیط زیست و عدم ایجاد مقاومت در حشرات در برابر آنها میباشد.

کلمات کلیدی: سفیدبالک گلخانه ***Trialeurodes vaporariorum* Westwood**، نانوذره، سیلیکا، قارچ ***B. bassiana***

* نویسنده رابط، پست الکترونیکی: *mirkazem2012@yahoo.com*

تاریخ دریافت مقاله۱٤۰۰/۷/۱۲ - تاریخ پذیرش مقاله:۱٤۰۰/۹/۲۰

مقدمه

سفیدبالک گلخانه *Trialeurodes vaporariorum* westwood (Homoptera:Aleyrodedae) یکی از آفات مهم بوده و به محصولات گلخانه ای و زینتی خسارت وارد میکند. اندازه ی بدن این آفت در حدود ۰/۹-۱/۱ میلیمتر میباشد. سفیدبالک گلخانه دارای شش مرحله رشدی تخم، پوره سن اول (مرحله خزنده)، دو مرحله پورگی ساکن (سنین دوم و سوم)، شفیره و حشره بالغ میباشد (Gerling, 1990). خسارت مستقیم این گونه در نتیجه تغذیه مراحل پورگی و حشره کامل از گیاهان میزبان بوده که منجر به کاهش کمی و کیفی میزبان های گیاهی می شود. علاوه بر آن، عسلک تولید شده توسط پوره ها زمینه را برای فعالیت قارچ های فوماژین فراهم میکند. سفیدبالک گلخانه همچنین در انتقال عوامل بیماریزای گیاهی نظیر ویروسها هم نقش دارد (Pappas et al,. 2013). این آفت با تغذیه از شیره گیاهی موجب به وجود آمدن تغییرات فیزیولوژیکی مانند نقره ای شدن برگها در کدوئیان، رسیدن غیریکنواخت در گوجه فرنگی و بدشکلی بخش های هوایی گیاه در گیاهان زینتی میشود. خسارت غیرمستقیم سفیدبالک گلخانه از طریق انتقال ویروسهای گیاهی و ترشح عسلک میباشد. این آفت ناقل بیش از ۱۰۰ نوع ویروس بیماریزای گیاهی میباشد. ترشح عسلک نیز به نوبه خود کاهش فتوسنتز و خسارت به بخشهای قابل برداشت محصول می شود.

اهمیت سفیدبالک‌ها به عنوان یکی از آفات اقتصادی به طور روزافزونی در حال افزایش است. جمعیت سفیدبالک‌ها در جهان به طور مشخصی از دهه ۱۹۷۰ افزایش یافته، به طوری که سابقاً برخی از گونه‌های گیاهی را آلوده نمی‌کردند اما امروزه با توجه به سازش با شرایط آب و هوایی جدید، به گونه‌های گیاهی دیگری نیز حمله می‌کنند (Brown, 1994). این آفت در سطح پشتی برگ گیاهان میزبان فعالیت می‌کند و به همین دلیل به سادگی در معرض محلول پاشی ترکیبات شیمیایی قرار نمی‌گیرد. این خصوصیت و نیز تاکید و وابستگی شدید به ترکیبات شیمیایی آفت کش، جهت کنترل جمعیت آفت، منجر به بروز مشکلات زیادی گشته است. یکی از این مشکلات، استفاده‌ی بی‌رویه و با غلظت‌های بالا از ترکیبات برخی آفت‌کش‌ها علیه این آفت بوده است؛ با توجه به اینکه این آفت، تعداد نسل سالیانه‌ی زیادی دارد، این امر منجر به بروز پدیده‌ی مقاومت به بسیاری از آفت‌کش‌ها شده است .به کارگیری و نحوه استفاده از آفت‌کش‌های شیمیایی برای کنترل بسیاری از آفات، آسان تر از به کارگیری روش‌های کنترل بیولوژیک است. با توجه به بروز مقاومت سفیدبالک گلخانه به اغلب سموم فسفره و کاربامات، معرفی سموم نسبتاً جدید و کم خطر یکی از راهکارهایی است که در جهت کاهش مقاومت آفت و نهایتا کاهش خسارت آن موثر میباشد. لذا مطالعه سموم نسبتاً جدید و کم خطر، می‌تواند اطلاعات کامل و جامعی را در زمینه مدیریت آفت در قالب برنامه‌های مدیریت تلفیقی فراهم کند. به همین دلیل بررسی ترکیبات جدید امری ضروری است. در سال‌های اخیر گرایش زیادی به افزایش عملکرد محصولات کشاورزی از طریق کاهش زیان آفات وجود دارد. در این راستا، کاربرد بی‌رویه سموم آفت‌کش، مشکلاتی جدی نظیر سمیت مستقیم برای پارازیتوئیدها، شکارگرها، گرده افشان‌ها، ماهی‌ها و انسان، بروز مقاومت در آفات نسبت به آفت‌کش‌ها، باقیمانده سموم در محصولات غذایی، اثرات سوء زیست محیطی و غیره را به دنبال داشته است.

در مدیریت تلفیقی آفات، تلفیق کنترل بیولوژیک با کاربرد آفت کشها به عنوان یک راهکار مهم در کاهش جمعیت آفات در نظر گرفته می شود. کاربرد قارچ های بیمارگر حشرات به عنوان حشره کش های طبیعی برای استفاده در کنترل تلفیقی آفات هم در کشاورزی معمولی و هم در کشاورزی ارگانیک گسترش یافته است. قارچ *Beauveria*

*bassiana*یک آفت کش بالقوه و یکی از پرمصرف ترین قارچهای حشره کش است که در دنیا برای کنترل آفات گیاهی مورد استفاده قرار می گیرد و دارای پتانسیل بالا در کنترل آفات است.

استفاده از نانوذرات به‌عنوان آفت‌کش به دلیل مشکلات کمتر زیست محیطی و نیز خطرات کمتر برای جانوران خون‌گرم، می‌توانند جایگزین مناسبی باشند.

نانوذرات رایج ترین عناصر در علم و فناوری نانو بوده و خواص جالب توجه آنها باعث گردیده است کاربردهای بسیار متنوعی در صنایع شیمیایی، پزشکی و دارویی، الکترونیک، صنایع فضایی و کشاورزی داشته باشند. یک نانوذره، ذره ای است که ابعاد آن در حدود ۱ تا ۱۰۰ نانومتر باشد (Rahimpour and Salimi ,2013).

افزایش نسبت سطح به حجم نانوذرات باعث میشود که اتمهای واقع در سطح، اثر بسیار بیشتری نسبت به اتمهای درون حجم ذرات، بر خواص فیزیکی ذرات داشته باشند. این ویژگی واکنش پذیری نانوذرات را به شدت افزایش می دهد علاوه بر این افزایش سطح ذرات فشار سطحی را تغییر داده و منجر به تغییر فاصله بین ذرات یا فاصله بین اتمهای ذرات می شود. روش هم رسوبی یکی از قدیمی ترین روشهای ساخت نانو ذرات مغناطیسی است که مزیت این روش ارزان بودن و وقت گیر نبودن آن است(Maity and Agrawal, 2007; Gnanaprakash et al, 2007).

گروه های عاملی بر سطح سیلیکا با ملکولهای هدف واکنش داده و اثر بخشی، ظرفیت و انتخابی بودن این جاذبها را افزایش می دهند. این مواد با توجه به عملکرد خوب و ظرفیت بالای جذب، قیمت ارزان و دوستدار محیط زیست بودن، در صورت دستیابی به تولید انبوه می توانند جهت کاهش سموم شیمیایی در بخش کشاورزی بکار روند (کریمی و همکاران، ۱۳۹۶).

لذا در این مقاله، جهت کاهش مصرف سموم و کاهش اثرات سوء سموم شیمیایی بر محیط زیست و دشمنان طبیعی، اثر قارچ بیمارگر *Beauveria bassiana* به تنهایی و در اختلاط با نانو ذرات سیلیکا علیه سفیدبالک گلخانه *T. vaporariorum* مورد مطالعه قرار گرفت.

.

مواد و روش ها

کشت گیاه میزبان

گیاه میزبان مورد استفاده برای انجام آزمایشات لوبیا بود که در گلدانهای پلاستیکی با قطر دهانه ۱۸ و ارتفاع ۱۶ سانتیمتر درگلخانه با شرایط دمایی ۲±۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی کاشته شد.

مواد مورد استفاده

جهت انجام این تحقیق قارچ بیماریزای *B. bassiana* از موسسه تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی-تهران تهیه شد.

نانو ذرات سیلیکا با فرمولاسیون پودر به اندازه ۵۰-۴۰ نانومتر با خلوص ۹۹/۹۹ درصد ساخت شرکت پیشگامان در آزمایشات زیست سنجی مورد استفاده قرار گرفت.

پرورش سفیدبالک گلخانه (*T. vaporariorum*) درگلخانه با شرایط دمایی ۲±۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی روی لوبیا سبز رقم ساندری انجام گرفت.

بررسی اثر نانو ذره سیلیکا روی قارچ بیمارگر *B. bassiana*

تهیه غلظت های مختلف از نانو ذره سیلیکا

جهت تهیه غلظتهای مختلف از نانو ذره مورد مطالعه، ابتدا غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام از نانو ذره به عنوان استوک تهیه گردید و رقتهای مختلف به روش سری (serial dilution) از استوک اصلی تهیه و در شرایط مناسب درون شیشه های تیره رنگ و دور از نور آفتاب نگهداری شد.

کشت قارچ بیمارگر *B. bassiana*

برای کشت و تکثیر قارچ بیمارگر از محیط کشت سابورب دکستروز آگار (SDA) استفاده شد. بعد از تهیه محیط کشت ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون قارچ مورد نظر به محیط کشت تلقیح شده و به مدت ۲۰ دقیقه در حرارت اتاق نگهداری شد. سپس دیسک های آغشته به غلظت های مختلف نانو ذره سلیکا در محیط کشت قرار داده شد و پتری دیشها به مدت ٤٨ ساعت در دمای ۳۰ درجه سلسیوس نگهداری شد؛ هاله ممانعت از رشد اطراف هر دیسک به وسیله کولیس و خط کش اندازه گیری شد. تیمار شاهد منفی، دیسک آب مقطر و تیمار شاهد مثبت، آنتی بیوتیک فلوکونازول بود. تست تاثیر نانو ذره سیلیکا روی قارچ در سه تکرار انجام شد.

همسن سازی سفید بالک

جهت انجام آزمایشات لازم است مراحل خاصی از زندگی سفید بالکهای همسن درپشت برگها ایجاد گردد. برای صحت و اعتبار نتایج آزمایشات مستلزم همسن بودن هریک از مراحل زیستی سفید بالک میباشد. در این بررسی برای انجام آزمایشها روی مراحل مختلف زیستی سفید بالک گلخانه از قفسهای کوچکی استفاده شد تا تخمهای گذاشته شده روی برگ در این قفسها به راحتی رشد و حشره بالغ دیگری روی برگ تخمریزی نکند؛ تعدادی از حشرات کامل سفید بالک (نر و ماده) به وسیله آسپیراتور از کلنی پرورش جدا شد و درون قفسهای مخصوص جفتگیری رها شد؛ که این قفسها از لیوان یکبار مصرف با قطردهانه ۸ و ارتفاع ۹ سانتی متر، از وسط طوری شکاف داده شده تا دمبرگ گیاه از آن عبور کرده و برگ لوبیا کاملا داخل لیوان قرارگیرد و حشرات کامل امکان خروج نداشته باشند. برای پوشاندن درب لیوانها و به منظور ایجاد تهویه در آنها، درب ظروف پتری ۸ سانتیمتری، از قسمت وسط سوراخ و با توری ۵۰ مش دو لایه مسدود شد. سپس هر کدام از تیمارهای حاوی مراحل مختلف زیستی سفید بالک، در سه تکرار و با تعداد حشره مورد ارزیابی قرار گرفت.

تعیین LC_{50} نانو ذرات سیلیکا، علیه مراحل تخم و پوره سن دو سفیدبالک

جهت تعیین غلظت کشنده ۵۰ درصد (LC_{50})، طی آزمایشات مقدماتی، حداقل و حداکثر غلظت نانو ذره، علیه مراحل زیستی تخم و پوره سن دوم که باعث مرگ ۲۰ الی ۸۰ درصد به روش زیست سنجی برگی میگردد، به دست آمد؛ سپس سه غلظت بین حداقل و حداکثر غلظت با استفاده از روش لگاریتمی محاسبه شد (Pourmirza, 2005).

بنابراین، پنج غلظت و شاهد، هر کدام در سه تکرار روی برگ لوبیا، در پتری دیشهای محصور بکار رفت، هر تکرار روی ۳۰ تخم و ۳۰ پوره سن دو انجام شد. برای این‌کار برگ‌ها از قسمت دمبرگ جدا شدند و هر غلظت از محلول و یا آب مقطر استریل به عنوان شاهد روی برگ‌ها توسط سمپاش دستی با دو فشار اسپری از فاصله ۲۰ سانتی‌متر به صورت کاملا عمود روی هر برگ پاشیده شد. سپس برگ‌ها درون ظرف پتری که با پنبه مرطوب پوشیده شده قرار گرفت و انتهای دمبرگ‌ها هم با پنبه مرطوب پوشیده شد تا رطوبت برگ از بین نرود سپس درب روی آن‌ها قرار داده شد. روی درب ظروف پتری سوراخی ایجاد و سپس با توری نازکی پوشانده شد؛ این کار برای تهویه، کاهش تجمع

بخار آب و کاهش الکتریسیته ساکن که ممکن است مانع حرکت حشره درون پتری شود؛ انجام گرفت. ظروف پتری حاوی برگ، در دمای ۲±۲۵ درجه سلسیوس و طول دوره نوری ۱٦:۸ (تاریکی: روشنایی) نگهداری شد و پس از ۲٤، ٤۸ و ۷۲ ساعت برای پوره و نیز در پایان ۷ روز میزان مرگ و میر تخم شمارش گردید. آزمایش‌ها در ۳ تکرار برای هر غلظت و با استفاده از طرح کاملا تصادفی انجام گرفت. زیست سنجی برای تخم و پوره‌ها بطور جداگانه مورد بررسی قرار گرفت.

زیست سنجی قارچ بیمارگر *B. bassiana* روی مراحل تخم و پوره سن دو سفید بالک

برای ارزیابی میزان بیمارگری قارچ *B. bassiana* از روش محلولپاشی برگی استفاده گردید. برای این منظور، پس از انجام آزمایشات مقدماتی و تهیه غلظتهای مورد نظر کنیدیومی، برگهای حاوی تخم و حاوی پوره سن دو سفیدبالک توسط محلولپاش دستی اسپری گردید. سپس برگهای حاوی تخم یا پوره سن دو توسط پتریهایی به قطر ۸ سانتیمتر حاوی کاغذ صافی سترون مرطوب محصور گردید. برای تیمار شاهد در شرایط یکسان و تنها از ۱۰ میلیلیتر آب مقطر استریل همراه با ۰/۰۵ درصد توئین ۸۰ استفاده شد. ارزیابی آلودگی حشرات بعد از گذشت ۲٤ ساعت تا ۷ روز ادامه یافت. ظروف مورد آزمایش به طور روزانه بررسی شد و در صورت مشاهده پوشش قارچی در سطح تخم یا پوره سن دو سفیدبالک، به عنوان آلودگی توسط قارچ محاسبه گردید. آزمایشات در ۳ تکرار و هر تکرار حاوی ۲۰ تخم یا ۲۰ پوره سن دو انجام شد.

بررسی اثر توام نانو ذرات سیلیکا با قارچ *B. bassiana* روی تخم

برای زیست‌سنجی تخم، یک روز پس از حذف حشرات بالغ از روی گلدان‌ها تعداد ۳۰ عدد تخم روی برگ‌ها توسط خط‌کشی با خودکار درون محدوده‌ای قرار داده شد. پس از آماده سازی غلظت‌های مختلف ترکیب مورد آزمایش (چهار تیمار شامل: LC_{50} نانو ذرات سیلیکا، LC_{50} قارچ *B. bassiana* ، همچنین LC_{25} نانو ذرات سیلیکا به علاوه LC_{25} قارچ *B. bassiana* و همچنین آب مقطر به عنوان تیمار شاهد)، برگ‌هایی که دارای تخم سفیدبالک بودند درون پتری‌ها قرار داده شد. سپس غلظت‌ها توسط سمپاش دستی با دو فشار اسپری از فاصله ۲۰ سانتی‌متری پاشیده شد. برگ‌ها به مدت چند دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت تا رطوبت اضافی از بین برود. برگ‌ها در شرایط دمایی ۲±۲۵ درجه سلسیوس دوره نوری ۱٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی برای مدت۷ روز نگهداری گردید؛ بعد از طی ۷ روز تخم‌ها بازبینی شد و تخم‌هایی که تفریخ نشده بودند و یا تغییر رنگ نداده بودند، مرده تلقی گردید.

بررسی اثر توام نانو ذرات سیلیکا و قارچ *B. bassiana* روی پوره سن دو سفید بالک

برای زیست سنجی پوره‌ها از پوره‌های همسن استفاده گردید. چهارده روز پس از حذف حشرات از روی گیاهان، آزمایش روی پوره‌ها انجام گردید؛ برای زیست سنجی پوره‌ها تعداد ۳۰ عدد پوره روی برگ توسط خودکار درون محدوده‌ای مشخص شد تا غلظت‌ها روی آن‌ها مورد آزمایش قرار گیرند. غلظت‌های مختلف ترکیبات مورد آزمایش (چهار تیمار شامل: LC_{50} نانو ذرات سیلیکا، LC_{50} قارچ *B. bassiana*، همچنین LC_{25} نانو ذرات سیلیکا به علاوه LC_{25} قارچ *B. bassiana* و همچنین آب مقطر به عنوان تیمار شاهد)، توسط سمپاش دستی با دو فشار اسپری از فاصله ۲۰ سانتی‌متری پاشیده شد. برگ‌ها درون ظروف پتری قرار گرفت و در شرایط دمایی ۲±۲۵ درجه سلسیوس و دوره نوری ۱٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی برای مدت ۲٤، ٤۸، و ۷۲ ساعت و پس از ۷ روز مورد بازبینی و شمارش قرار گرفت. در این آزمایش پوره‌هایی که خشک یا تغییر رنگ دادند به عنوان مرده تلقی شد.

روش‌ها و ابزار تجزیه و تحلیل داده‌ها:

برای تعیین دوز کشنده ۵۰ و ۲۵ درصد نانو ذرات سیلیکا و قارچ *B. bassiana* روی مراحل زیستی سفید بالک گلخانه از روش تجزیه پروبیت استفاده شد(Abbot, 1925). همچنین برای ارزیابی اثر کشندگی توام نانو ذرات سیلیکا با قارچ *B. bassiana* روی مراحل زیستی سفیدبالک از روش تجزیه واریانس ANOVA یک طرفه و مقایسه میانگین ها با استفاده از روش توکی در سطح احتمال ۵ درصد از نرم افزار SPSS استفاده شد.

نتایج و بحث

تعیین کشندگی LC_{50} نانو ذرات سیلیکا و قارچ *B. bassiana* روی سفیدبالک

٤-١-١ تعیین کشندگی روی تخم سفیدبالک

تجزیه پروبیت حاصل از تاثیر غلظتهای مختلف نانو ذرات سیلیکا و قارچ *B. bassiana* بعد از ۷ روز روی مرحله تخم، سفید بالک گلخانه مطابق جدول (٤-١) حاصل شد. با توجه به سمیت نسبی و شاخص سمیت بر پایه LC_{50} حاصل از ترکیبات روی مرحله تخم سفیدبالک بعد از ۷ روز نتایج نشان داد که نانو ذره سیلیکا دارای سمیت بیشتری نسبت به قارچ *B. bassiana* میباشد. همچنین شاخص سمیت و سمیت نسبی با استفاده از فرمول ٤-١و ٤-٢ به دست آمد (Sun, ۱۹۵۰)(شکل ۳-۷).

$$\text{سمیت نسبی} = \left(\frac{LC50 \text{ کم اثرترین سم}}{LC50 \text{ ترکیب دیگر}}\right) \quad (1\text{-}4)$$

$$\text{شاخص سمیت} = \left(\frac{LC50 \text{ قویترین سم}}{LC50 \text{ ترکیب دیگر}}\right) \times 100 \quad (2\text{-}4)$$

جدول ۴-۱. تجزیه پروبیت حاصل از تاثیر غلظتهای مختلف نانو ذرات سیلیکا و قارچ *B. bassiana* بعد از ۷ روز روی مرحله تخم، سفید بالک گلخانه

Table 4-1. Analysis of probit by different concentrations of silica nanoparticles and *B. bassiana* after 7 days on greenhouse whitefly egg

Treatments	Dosages (mg.L)	Slop± SE	Interseps+5	X^2 (df)	LC_{50} (95% CLs)	* Toxicity index (%)	Relative * Potency
Silica nanoparticles	800	3.92±1.80	-11.02+5	0.02 (2)	643.97 (102.52-800.04)	100	264.61
	662.5						
	525						
	387.5						
	250						
	Control						
Beauveria bassiana	10^8	0.67±0.23	-4.21+5	0.72(2)	170399 (5377-855144)	0.38	1
	10^7						
	10^6						
	10^5						
	10^4						
	Control						

* شاخص سمیت و سمیت نسبی بر اساس LC_{50}

Toxicity index and relative toxicity based on LC_{50}

٤-١-٢ تعیین کشندگی روی پوره سن دوم سفیدبالک گلخانه

تجزیه پروبیت حاصل از تاثیر غلظتهای مختلف نانو ذرات سیلیکا و قارچ *B. bassiana* بعد از٢٤، ٤٨ و ٧٢ ساعت روی پوره سن دوم سفیدبالک گلخانه مطابق جدول (٤-٢) حاصل شد. با توجه به سمیت نسبی و شاخص سمیت بر پایه LC_{50} حاصل از ترکیبات روی مرحله پوره سن دوم سفیدبالک گلخانه بعد از ٢٤، ٤٨ و ٧٢ ساعت نتایج نشان داد که نانو ذرات سیلیکا دارای سمیت بیشتری نسبت به و قارچ *B. bassiana* میباشد.

جدول ۴-۲. تجزیه پروبیت حاصل از تاثیر غلظتهای مختلف نانو ذرات سیلیکا و قارچ *B. bassiana* بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت روی پوره سن دوم سفیدبالک گلخانه

Table 4-2. Analysis of probit by different concentrations of silica nanoparticles and *B. bassiana* after 24, 48 and 72 hours on second instar greenhouse whitefly nymph

Treatments	Dosages (ml.L)	Time(hr)	Slop ± SE	Interseps+5	X^2 (df)	LC_{50} (95% CLs)	Toxicity *(%) index	Relative *Potency
Silica nanoparticles	800	24	4.34±1.78	-12.17+5	0.11(2)	640.11 (304.96-777.21)	100	176.75
	662.5							
	525	48	4.60±1.81	-12.87+5	0.12(2)	631.00 (344.88-761.72)	100	141.96
	387.5							
	250	72	5.31±1.86	-14.77+5	0.11(2)	602.95 (388.75-709.89)	100	129.99
	Control							
Beauveria bassiana	10^8	24	0.50±0.23	-3.06+5	0.04(2)	113139 (0.00-15259037)	0.57	1
	10^7							
	10^6	48	0.51±0.25	-2.99+5	0.02(2)	89574 (0.00-15482777)	0.70	1
	10^5							
	10^4	72	0.63±0.26	1.-3.74	0.28(2)	78379 (0.006-8532026)	0.77	1
	Control							

* شاخص سمیت و سمیت نسبی بر اساس LC_{50}

Toxicity index and relative toxicity based on LC_{50}

٤-١-٣ تعیین کشندگی اختلاط سموم روی تخم سفیدبالک

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده های مربوط به غلظت های مختلف نانو ذرات سیلیکا و قارچ *B. bassiana* بعد از ۷ روز روی مرحله تخم، سفید بالک گلخانه (جدول ٤-٣)، (شکل ٤-١) نشان داد که با اطمینان ۹۵ درصد بین تیمارها اختلاف معنی داری وجود دارد. F محاسبه شده از F جدول در سطح احتمال آماری ۹۵ درصد، بزرگتر بوده و P (احتمال) کوچکتر از ۰/۰۵ میباشد.

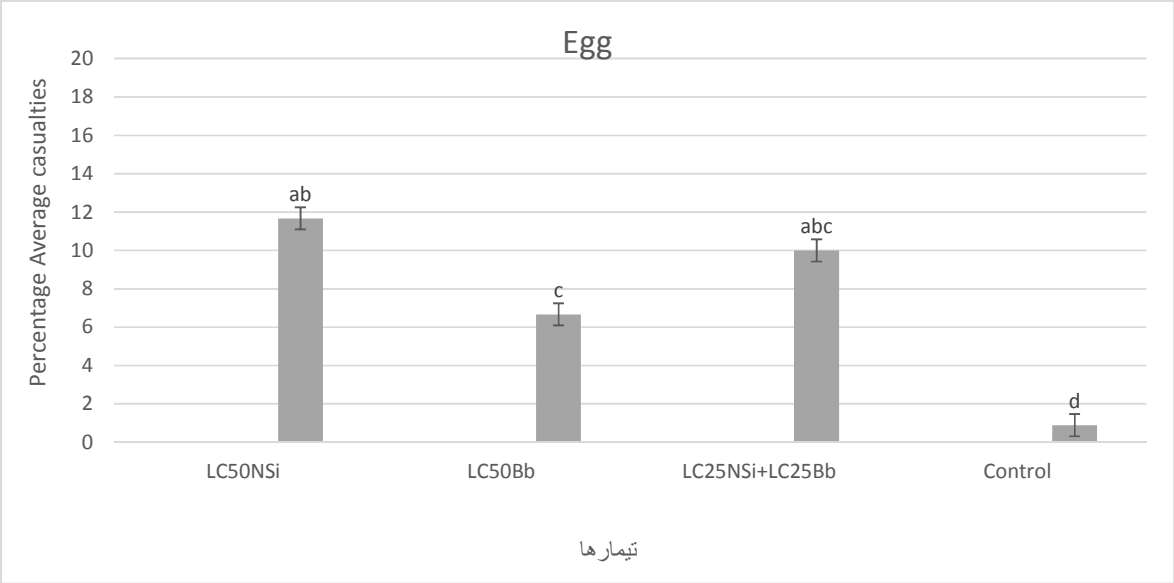
٤-١-٣-١ گروهبندی میانگین تیمارهای مخلوط نانو ذرات سیلیکا و قارچ *B. bassiana* روی تخم سفیدبالک

مقایسه گروه بندی میانگین درصد تلفات تیمارها با آزمون توکی نشان داد که تیمار نانو ذره سیلیکا اثر بالاتری نسبت به بقیه تیمارها دارد (شکل٤-١).

جدول ۴-۳ تجزیه واریانس حاصل از تاثیر غلظتهای مختلف نانو ذرات سیلیکا و قارچ *B. bassiana* بعد از ۷ روز روی مرحله تخم، سفیدبالک گلخانه

Table 4-3 Analysis of variance due to the effect of different concentrations of silica nanoparticles and B. bassiana after 7 days on greenhouse whitefly egg

Time	Source Changes	Degrees of freedom	Sum of squares	average of squares	F Value	probability
days ۷	Treatment	۴	۱۰۳/۱۴۳	۲۵/۷۸۵	۲۲/۵۶۳*	۰/۰۰۱
	Error	۱۲	۱۰/۶۶۷	۰/۸۸۸		
	Total	۱۶	۱۱۳/۸۱۰			



شکل ۴-۱ مقایسه میانگین تلفات تخم بعد از ۷ روز در سطح احتمال ۹۵٪ با آزمون توکی. ستون‌های باحروف یکسان اختلاف معنی‌داری با هم ندارند

Figure 4-1 Comparison of means egg motality after 7 days at 95% probability level with Tukey test. Columns with the same letters do not differ significantly

٤-١-٤ تعیین کشندگی اختلاط سموم روی پوره سن دوم سفیدبالک

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده های مربوط به غلظت های مختلف نانو ذرات سیلیکا و قارچ *B. bassiana* بعد از۱،۳، ۵ و۷ روز روی پوره سن دوم سفیدبالک گلخانه (جدول ٤-٤)، (شکل ٤-٢) نشان داد که با اطمینان ۹۵ درصد بین تیمارها اختلاف معنی داری وجود دارد. F محاسبه شده از F جدول در سطح احتمال آماری ۹۵ درصد، بزرگتر بوده و P (احتمال) کوچکتر از ۰/۰۱ میباشد.

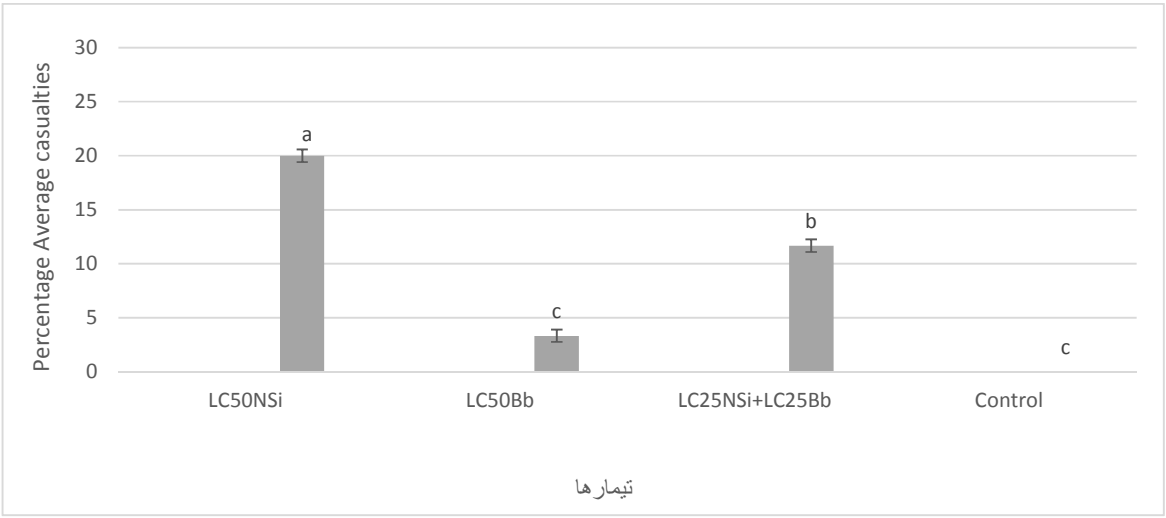
جدول ۴-۴. تجزیه واریانس حاصل از تاثیر غلظتهای مختلف نانو ذرات سیلیکا و قارچ *B. bassiana* بعد از۱،۳، ۵ و۷ روز روی سن دوم پورگی سفیدبالک گلخانه

Table 4-4. Analysis of variance due to the effect of different concentrations of silica nanoparticles and *B. bassiana* after 1, 3, 5 and 7 days on the second instar of greenhouse whitefly nymphs

Time	Source Changes	Degrees of freedom	sum of squares	average of squares	F Value	probability
days ۱	Treatment	۴	۴۱۰/۵۷۱	۱۰۲/۶۴۳	*۹۵/۸۰۰	۰/۰۰۱
	Error	۱۲	۱۰/۰۰۰	۰/۸۳۳		
	Total	۱۶	۴۲۰/۵۷۱			
days ۳	Treatment	۴	۳۷۷/۱۴۳	۹۴/۲۸۵	*۷۳/۳۳۳	۰/۰۰۱
	Error	۱۲	۱۲/۰۰۰	۱/۰۰۰		
	Total	۱۶	۳۸۹/۱۴۳			
days ۵	Treatment	۴	۴۴۳/ ۱۴۳	۱۱۰/۷۸۵	*۱۵/۶۶۷	۰/۰۰۱
	Error	۱۲	۶۶/۰۰۰	۵/۵۰۰		
	Total	۱۶	۵۰۹/۱۴۳			
days ۷	Treatment	۴	۴۳۷/۱۴۳	۱۰۹/۲۸۵	*۷۲/۸۵۷	۰/۰۰۱
	Error	۱۲	۱۴/۰۰۰	۱/۱۶۷		
	Total	۱۶	۴۵۱/۱۴۳			

٤-۱-٤-۱ گروهبندی میانگین تیمارهای مخلوط نانو ذرات سیلیکا و قارچ *B. bassiana* روی پوره سن دوم سفیدبالک بعد از ۱ روز

مقایسه گروه بندی میانگین درصد تلفات تیمارها با آزمون توکی نشان داد که بعد از ۱ روز تیمارهای نانوذره سیلیکا ، بطور معنی داری اثر بالاتری دارند و تیمار و قارچ *B. bassiana* کمترین تلفات را روی پوره سن دوم ایجاد کرده است(شکل ٤-۲).

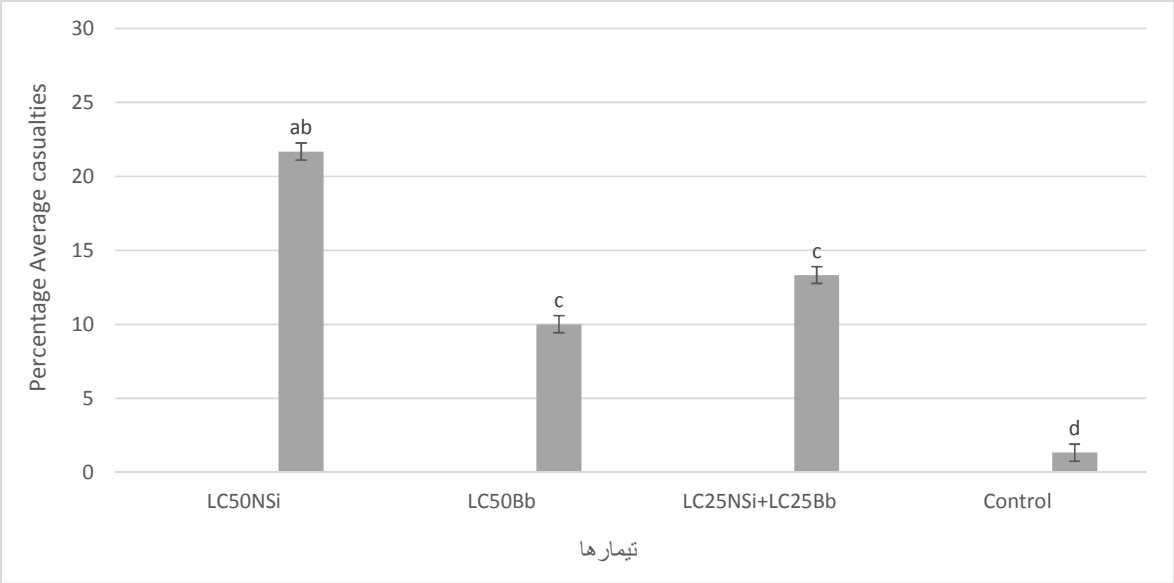


شکل ۴-۲ مقایسه میانگین تلفات سن دوم پورگی بعد از۱ روز در سطح احتمال ۹۵٪ با آزمون توکی. ستون‌های باحروف یکسان اختلاف معنی‌داری با هم ندارند

days at 95% probability level with Tukey test. Columns with ۱Figure 4-2 Comparison of mean secondary nymphal mortality after the same letters do not differ significantly

٤-۱-٤-۲ گروه بندی میانگین تیمارهای مخلوط نانو ذرات سیلیکا و قارچ *B. bassiana* روی پوره سن دوم سفیدبالک بعد از ۳ روز

مقایسه گروه بندی میانگین درصد تلفات تیمارها با آزمون توکی نشان داد که بعد از۳ روز تیمار نانوذره سیلیکا بطور معنی داری اثر بالاتری نسبت به بقیه تیمارها دارند و تیمارهای قارچ *B. bassiana* کمترین تلفات را روی پوره سن دوم ایجاد کرده است(شکل ٤-۳).

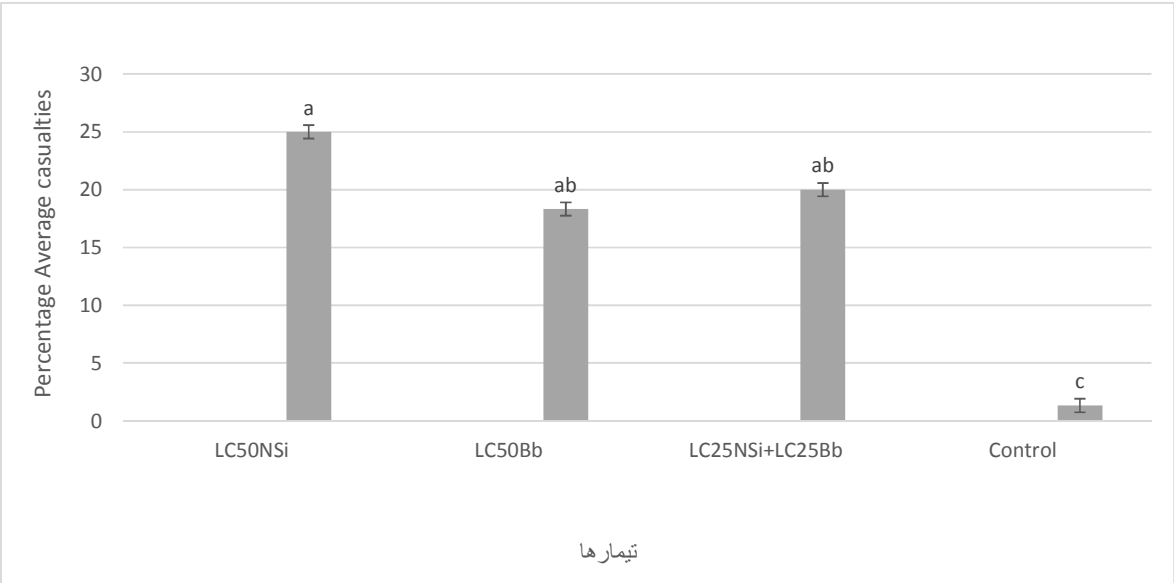


شکل ۴-۳ مقایسه میانگین تلفات سن دوم پورگی بعد از ۳ روز در سطح احتمال ۹۵٪ با آزمون توکی. ستون‌های باحروف یکسان اختلاف معنی‌داری با هم ندارند

days at 95% probability level with Tukey test. Columns with ۳Figure 4-3 Comparison of mean secondary nymphal mortality after the same letters do not differ significantly

٤-١-٤-٣ گروه بندی میانگین تیمارهای مخلوط نانو ذرات سیلیکا و قارچ *B. bassiana* روی پوره سن دوم سفیدبالک بعد از ۵ روز

مقایسه گروه بندی میانگین درصد تلفات تیمارها با آزمون توکی نشان داد که بعد از۵ روز تیمارهای نانوذره سیلیکا ، بطور معنی داری اثر بالاتری دارند و تیمار قارچ *B. bassiana* کمترین تلفات را روی پوره سن دوم ایجاد کرده است(شکل ٤-٤).

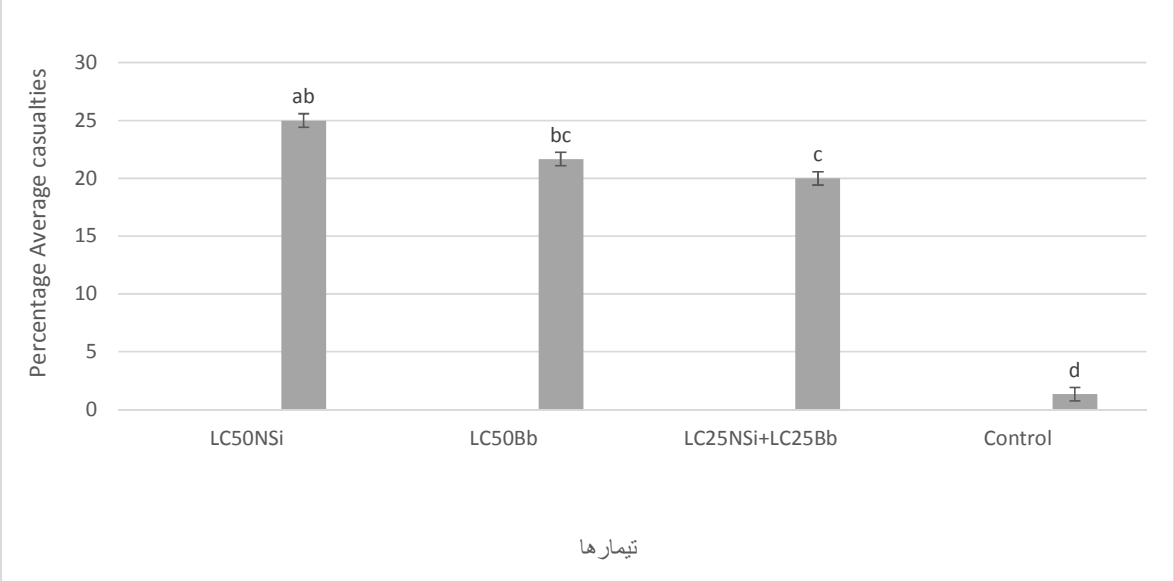


شکل ۴-۴ مقایسه میانگین تلفات سن دوم پورگی بعد از ۵ روز در سطح احتمال ۹۵٪ با آزمون توکی. ستون‌های باحروف یکسان اختلاف معنی‌داری با هم ندارند

days at 95% probability level with Tukey test. Columns ۵Figure 4-4 Comparison of mean secondary nymphal mortality after with the same letters do not differ significantly

٤-۱-٤-٤ گروه بندی میانگین تیمارهای مخلوط نانو ذرات سیلیکا و قارچ *B. bassiana* روی پوره سن دوم سفیدبالک بعد از ۷ روز

مقایسه گروه بندی میانگین درصد تلفات تیمارها با آزمون توکی نشان داد که بعد از۷ روز، تیمار نانوذره سیلیکا ، بطور معنی داری اثر بالاتری نسبت به بقیه تیمارها دارند و تیمار قارچ *B. bassiana* به تنهایی کمترین تلفات را روی پوره سن دوم ایجاد کرده است ولی در اختلاط با نانو ذره سیلیکا به مرور زمان تاثیر قارچ افزایش پیدا کرد(شکل ٤-۵).



شکل ۴-۵ مقایسه میانگین تلفات سن دوم پورگی بعد از۷ روز در سطح احتمال ۹۵٪ با آزمون توکی. ستون‌های باحروف یکسان اختلاف معنی‌داری با هم ندارند

Figure 4-5 Comparison of mean secondary nymphal mortality after 7 days at 95% probability level with Tukey test. Columns with the same letters do not differ significantly

٤-۲ تاثیر سموم نانو ذره سیلیکا بر جوانه زنی کنیدی قارچ *B. bassiana*

نتایج حاصل از تاثیر غلظت های مختلف نانو ذره سیلیکا بر قارچ *B. bassiana* ،نشان داد که این نانو ذره اثر سو روی جوانه زنی این قارچ ندارد (جدول ٤-۵) و می تواند به صورت توام با قارچ در کنترل تلفیقی سفیدبالک گلخانه مورد استفاده قرار گیرد.

جدول ۴-۵. تاثیر غلظت های مختلف نانو ذره سیلیکا بر جوانه زنی قارچ *B. bassiana* ۷۲ ساعت پس از تیمار

Table 4-5. Effect of different concentrations of silica nanoparticles on germination of B. bassiana 72 hours after treatment

B. bassiana germination percentage	Concentration of silica nanoparticles in culture (µl/ml) medium
96/54±0/57 [a]	250
97/66±0/33 [a]	387/5
98/0±0/57 [a]	525
97/63±0/73 [a]	662/5
96/67±0/23 [a]	800
98/00±0/57 [a]	sample

*میانگین های دارای حروف غیرمشابه در ستون نشان دهنده اختلاف معنیداری در سطح ۵ درصد در آزمون توکی میباشند.

*Means with dissimilar letters in the column show a significant difference at the level of 5% in Tukey test.

بحث

استفاده طولانی مدت از سموم حشره کش شیمیایی برای کنترل سفیدبالک ممکن است باعث ایجاد مقاومت این آفت نسبت به آفت کش ها شود. در سالهای اخیر، استفاده از نانوذرات برای کنترل عوامل بیماری زا در کشاورزی مورد توجه قرار گرفته است (Guan et al., 2008; Sang Woo et al., 2009; Eleka et al., 2010).

در مقاله حاضر، آزمایش های زیست سنجی برای ارزیابی تاثیر حشره کش نانوذره سیلیکا به تنهایی و همراه با قارچ *B. bassiana* بر روی سفیدبالک گلخانه انجام شد. نتایج نشان داد که این نانوذره روی قدرت جوانه زنی قارچ تاثیر معنی داری نداشته و به همراه قارچ *B. bassiana* میتواند یک روش کنترل موثر علیه این آفت مهم باشد. نتایج مطالعه ما نشان داد که مرگ و میر حشرات به طور قابل توجهی با افزایش غلظت آفتکش ها افزایش می یابد. اگرچه مرگ و میر حشرات در نتیجه استفاده از نانوذره سیلیکا به تنهایی بیشتر از قارچ *B. bassiana* بود. گزارشات دیگر محققان نیز در مورد تاثیر نانو ذرات بر حشرات با مقاله حاضر مطابقت دارد (Guan et al., 2008; Samih et al., 2011; Rouhani et al., 2011).

یکی از مزایای استفاده از نانوذرات، احتمال ایجاد مقاومت کمتر در استفاده طولانی مدت است. نتایج آزمایش محققین نشان داده است که ذرات نقره در اندازه نانومتر دارای خواص فیزیکی و شیمیایی متفاوتی در مقیاسه با ذرات معمولی نقره هستند و همین عامل بر فرایندهای بیولوژیکی و فیزیولوژیکی آنها تأثیر می گذارد. (Nel et al., 2003; Sang Woo et al., 2009)

در تحقیقی Debnath و همکاران ۲۰۱۰ تاثیر نانوذره سیلیکا را روی شپشه برنج Sitophilus oryzae L. بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد که این نانوذره تاثیر زیادی روی این آفت داشته و تا ۹۵ درصد میتواند این آفت را کنترل کند. نتایج این محققین با نتایج مقاله حاظر مطابقت دارد.

اگرچه مطالعات متعددی در مورد اثرات سمی نانوذرات بر باکتری ها ، قارچ ها و عوامل بیماریزای حیوانی انجام شده است (Ragg and Rannie, 1974; Feng et al., 2000; Samuel and Guggenbichler, 2004; Elchiguerra et al., 2005; Reddy et al., 2007) تحقیقات کمی در مورد بررسی اثر سمی نانوذرات بر حشرات انجام شده است.

تغییر در فناوری های مربوط به کشاورزی مهمترین عامل در ایجاد کشاورزی مدرن است. در این میان فناوری نانو، زمینه مناسبی را در تولید محصولات کشاورزی فراهم آورده است. گزارشها حاکی از کاهش مدت زمان لازم برای رشد و پوست اندازی پروانه کرم ابریشم Bombyx mori L. (Lepidoptera: Bombycidae) تحت تاثیر نانوذرات دی اکسید تیتانیوم بوده است .(Li etal., 2014)

در تحقیقی Araj و همکاران در سال ۲۰۰۵ اثرات نانو نقره را روی مگس سرکه Drosophilla melanogaster بررسی کردند نتایج حاکی از آن بود که این نانو ذرات دارای قدرت کشندگی بالا روی لارو، شفیره و حشرات کامل این حشره بود.

همچنین Velayutham و همکاران ۲۰۱۳ تاثیر نانوذرات نقره را در ترکیب با عصاره گیاهان روی لارو دوبالان و پشه آنوفل بررسی کردند و نتایج نشانگر تلفات ۱۰۰ درصدی در این لاروها بود. در تحقیقی دیگر Jalalizand و همکاران ۲۰۱۳ تاثیر نانوذرات نقره را روی کنه تارتن *Tetranychus urtica* بررسی و موثر بودن آن را عنوان کردند.

استفاده از ترکیبات نانو ذره می توانند در کنترل آفات مهمی مانند سفیدبالکها بسیار موثر باشند. تعدادی از محققین اثرات سمی ذرات نانو فلزاتی (مانند: نقره ، روی ، آلومینیوم و اکسید تیتانیوم) را روی گیاهان ، سخت پوستان ، باکتریها ، قارچها ، عوامل بیماریزا و آفات گزارش کرده اند (Reddy et al., 2007; Goswami et al., 2010; Rouhani et al., 2012; Kairyte et al., 2013).

نتایج آزمایش های زیست سنجی قارچ B. bassiana در روی تخم بعد از ۷ روز و پوره های سفیدبالک بعد از ۷۲ ساعت نشان داد که مقادیر LC_{50} محاسبه شده به ترتیب ۱۷۰۳۹۹ و ۷۸۳۷۹ کنیدی در میلی لیتر می باشد. جاور و همکاران مقدار LC_{50} سویه های مختلف این قارچ روی پوره های سن سوم سفیدبالک گلخانه را بین 105×4/09 تا 103×3/9 برآورد کردند(Javar et al. 2019). با نتایج مقاله حاظر مطابقت دارد.

بررسی بیمارگری ۲۵ جدایه قارچ *B. bassiana* در غلظت 107×1 کنیدی در میلی لیتر روی سفیدبالک گلخانه نشان داد قدرت بیمارگری آنها بین ۳ تا ۸۵ درصد است .(Quesada–Moraga et al., 2005)

بررسی بیمارگری جدایه ای از قارچ *B. bassiana* روی پوره های سنین مختلف سفیدبالک گلخانه مشخص شد که این جدایه در غلظت 106×1 کنیدی در میلی لیتر ٦۳ درصد تلفات روی پوره های سنین یک و دو ۷۱/٦۸ درصد تلفات روی پوره های سنین سه و چهار ایجاد کرده و پوره های سنین بالا حساسیت بیشتری به قارچ دارند (Malekan et al. 2015).

بنابراین با توجه به نتایج مقاله حاضر نانوذره سیلیکا و قارچ *B. bassiana* هم به تنهایی و هم بصورت ترکیبی میتوانند در کنترل تلفیقی آفت مهم سفیدبالک گلخانه بکار روند. مهمترین مزیت استفاده از این ترکیبات سازگار بودن آنها با محیط زیست و عدم ایجاد مقاومت در حشرات در برابر آنها میباشد.

نتیجه گیری

با توجه به سمیت نسبی و شاخص سمیت بر پایه LC_{50} حاصل از ترکیبات روی مرحله تخم سفیدبالک بعد از ۷ ساعت نتایج نشان داد که نانو ذره سیلیکا دارای سمیت بیشتری نسبت به دیگر ترکیبات میباشد.

با توجه به سمیت نسبی و شاخص سمیت بر پایه LC_{50} حاصل از ترکیبات روی مرحله پوره سن دوم سفیدبالک گلخانه بعد از ۲٤، ٤۸ و ۷۲ ساعت نانو ذرات سیلیکا دارای سمیت بیشتری نسبت به دیگر ترکیبات میباشد.

مقایسه گروه بندی میانگین درصد تلفات تیمارها روی تخم سفیدبالک با آزمون توکی نشان داد که تیمار نانو ذره سیلیکا اثر بالاتری نسبت به بقیه تیمارها دارد.

مقایسه گروه بندی میانگین درصد تلفات تیمارها با آزمون توکی نشان داد که بعد از۷ روز، تیمار نانوذره سیلیکا، بطور معنی داری اثر بالاتری نسبت به بقیه تیمارها دارند و تیمار قارچ *B. bassiana* به تنهایی کمترین تلفات را روی پوره سن دوم ایجاد کرده است ولی درصورت اختلاط با نانو ذره سیلیکا، به مرور زمان تاثیر قارچ افزایش پیدا کرد.

بیشترین رابطه رگرسیونی و برازش در مرحله تخم بعد از ۷ روز، مربوط به قارچ *B. bassiana* و در مرحله پورگی درنیز در هر سه زمان ۲٤ و ٤۸ و ۷۲ ساعت مربوط به سم قارچ *B. bassiana* میباشد.

نتایج حاصل از تاثیر غلظت های مختلف نانو ذره سیلیکا بر قارچ *B. bassiana*،نشان داد که این نانو ذره اثر سو روی جوانه زنی این قارچ ندارد و میتواند به صورت توام با قارچ در کنترل تلفیقی سفیدبالک گلخانه مورد استفاده قرار گیرند.

Referance

Adana, A., Fen, B., Dergisi, B., Tunçsoy, B. S. 2018. Toxicity of nanoparticles on insects: A review. Environmental Science and Pollution Research 1(2): 49–61.

Antonio, F.M., Pucheta, M.D., Rodriguez, S.N., De La Torre, M.M., Ramos, M.A.L. 2012. Mycoinsecticide effects of *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Isaria fumosorosea* on the whitefly *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) in different strata of bean. African Journal of Microbiology Research 6(45): 7246-7252.

Araj, S. A., Salem, N. M., Ghabeish, I. H., Awwad, A. M. 2015. Toxicity of Nanoparticles against *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). Journal of Nanomaterials., Article ID 758132, 9 pages. http://dx.doi.org/10.1155/2015/758132

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

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.

Benelli, G. 2016. Plant-mediated biosynthesis of nanoparticles as an emerging tool against mosquitoes of medical and veterinary importance: a review. Parasitol. Res. 115: 23-34.

Bhattacharyya, A., Bhaumik, A., Rani, P.U., Mandal, S., Epidi, T.T. 2010. Nano-particles - A recent approach to insect pest control. African Journal of Biotechnology 9:3489-3493.

Bragg, P.D., Rannie, D.J. 1974. The effect of silver ions on the respiratory chain of *Escherichia coli*. Canadian Journal of Microbiology 20:883-889.

Briggs, C.J. 1993. Competition among parasitoid species on a stage-structured host and its effect on host suppression. American Naturalist, 141: 372-397.

Brown, J.K., Frohlich, D.R., Rosell, R.C. 1995. The sweetpotato or silverleaf whiteflies: biotypes of *Bemisia tabaci* or a species complex? Annual Review of Entomology, 40:511-534.

Byrne, D. N. and Bellows, T. S. 1991. Whitefly biology. Annual Review of Entomology, 36:431-457.

Capinera, J. L. 2008. Greenhouse Whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Homoptera: Aleyrodidae). In Encyclopedia of Entomology. 10.1007/978-1-4020-6359-6-1185.

Castle, S.J., Palumbo, J.C., Prabhaker N., Horowitz A.R., Denholm, I. 2010: Ecological determinants of *Bemisia tabaci* resistance to insecticides. In Stansly P.A. & Naranjo S.E.(eds): Bemisia: Bionomics and Management of a Global Pest.Springer Science + Business Media B.V., pp. 423–467.

Choi, W. I., Lee, E. H., Choi, B. R., Park, H. M., Ahn, Y. J. 2003. Toxicity of plant essential oils to *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). Journal of Economic Entomology, 96(5):.1479-1484.

Civelek, H. S., Yoldas, Z. 2003. Population densities of *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard) (Diptera: Agromyzidae) in insecticide treated and non-treated cucumber producing greenhouse in izmir region. Turk. J. Agr. Forest., 27: 43- 48.

Claver, M.A., Ravichandran, B., Khan, M.M., Ambrose, D.P. 2003. Impact of cypermethrin on the functional response, predatory and mating behavior of a nontarget potential biological control agent Acanthaspis pedestris (Stal) (Het., Reduviidae). Journal of Applied Entomology, 127: 18-22.

Colfer, R.G., Rosenheim, J.A. 1995. Intra-guild predation by coccinellid beetles on an aphid parasitoid, Lysiphlebus testaceipes. Proceeding of the Beltwide Cotton Conference. pp.1033-1036. Cory, J.S., Hoover, K. 2006. Plant-mediated effects in insectpathogen interactions. Trends in Ecology & Evolution, 21:278-286.

Cranshaw, W.S. 2007. Greenhouse Whitefly. Colorado State University Extension. https://extension.colostate.edu/topic-areas/insects/greenhouse-whitefly-5-587/

Debnath, N., Das, S., Seth, D. 2010. Entomotoxic effect of silica nanoparticles against *Sitophilus oryzae* (L.). J Pest Sci 84, 99–105

Elchiguerra, J.L., Burt, J.L., Morones, J.R., Camacho-Bragado, A., Gao, X., Lara, H.H., Yacaman, M.J. 2005. Interaction of silver nanoparticles with HIV-1. Journal of Nanobiotechnology 3:6.

Eleka, N., Hoffmanb, R., Ravivb, U., Reshb, R., Ishaayac, I., Magdassi, S. 2010. Novaluron nanoparticles: Formation and potential use in controlling agricultural insect pests. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 372:66-72.

Evans, G.A. 2008. The whiteflies (Homoptera: Aleyrodidae) of the world and their host plants and natural enemies., 23: p.703.

Evans, E.W., England, S. 1996. Indirect interaction in biological control of insects: pests and natural enemies in alfalfa. Ecological Applications, 6: 920-930.

Faria, M., Stephen P. Wraight, S.P. 2001. Biological control of *Bemisia tabaci* with fungi. Crop Protection 20: 767–778.

Feng, Q.L., Wu, J. Chen, G.O. Cui, F.Z. Kim, T.N., Kim, J.O. 2000. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Journal of Biomedical Materials Research 52:662-668.

Flint, H.M., Parks, N.J. 1989. Effect of Azadirachtin from the Neem tree on immature sweetpotato whitefly *bemisia tabaci* and other selected pest spon cotton. Journal of. Agricultural. Entomology, 6(4): 211-2

Fransen, J.J. 1990. Natural enemies of whiteflies, Fungi. In: Gerling, D. (Eds.), Whiteflies: Their Bionomics, Pest Status and Management Intercept. Andover, UK, 187–210 pp.

Gerling, D. 1990. Whiteflies: Their Bionomics, Pest status and Management. 348 p. Intercept, Wimborne, UK.

Gibson, D.M., Donzelli, B.G.G., Krasnoff, S.B., Keyhani, N.O. 2014. Discovering the secondary metabolite potential encoded within entomopathogenic fungi. Natural Product Reports 31: 1287-1305.

Gill, R. 1990. The morophology of whiteflies, pp.13-46. In: whiteflies: their bionomics, pest status and management. (eds) D. Gerling. Intercept LTD, U K,348pp.

Gnanapralash, G., Mahadevan, S., Jayakumar, T., Kalyanasundaram, P., Philip, J., Raj, B. 2007. Effect of initial pH and temperature of iron salt solutions on formation ofmagnetite nanoparticles. Materials chemistry and Physics, 103, pp. 168-175.

Goettel, M. S., Poprawski T.J., Vandenberg J.D., Li Z., Roberts, D.W. 1990. Safety to nontarget invertebrates of fungal biocontrol agents. In: Laird, M., Lacey, L. A., and Davidson, F. W. (Eds.), Safety of Microbial Insecticides. CRC Press, Florida, pp. 209-231

Goolsby, J.A., Ciomperlik, B.C., Legaspi, Jr., Legaspi, J.C., Wendel, L.E. 1998. Laboratory and field evaluation of exotic parasitoids of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Biotype "B") (Homoptera: Aleyrodidae) in the Lower Rio Grande Valley of Texas. Biological Control, 12: 127-135.

Gottschalk, F. and Nowack, B. 2011. The release of engineered nanomaterials to the environment. Journal of Environmental Monitoring 13(5): 1145–1155.

Goswami, A., Roy, I., Sengupta, S., Debnath, N. 2010. Novel applications of solid and liquid formulations of nanoparticles against insect pests and pathogens. Thin Solid Films. 519(3): 1252-1257.

Guan, H., Chi, D. Yu, J., Li, X. 2008. A novel photodegradable insecticide: Preparation, characterization and properties evaluation of nano-Imidacloprid. Pesticide Biochemistry and Physiology 92:83-91.

Hoddle, M.S., Van Driesche, R. G., Sanderson, J. P. 1998. Biology and use of the whitefly parasitoid *Encarsia formosa*. Annual Review of Entomology 43: 645-669.

Hojjat, S, H. 1996. Insects (collection and identification guide). Amir Kabir Publishing Institute.

Islam, M.T., Castle, S.J., Ren, S. 2010. Compatibility of the insect pathogenic fungus *Beauveria bassiana* with neem against sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*, on eggplant. The Netherlands Entomological Society 134: 28–34.

Jalalizand, A. R., Gavanji, SH., karimzadeh Esfahani, J., Besharatnejad, M. H., Emami, M. S., Larki, B. 2013. The effect of Silver nanoparticles on *Tetranychus urticae*. International Journal of Agriculture and Crop Sciences. 5 (8), 820-827.

James, R.R., Lighthart, B. 1994. Susceptibility of the convergent ladybeetle (Coleoptera: Coccinellidae) to four entomogenous fungi. Environmental Entomology, 23: 190-192.

Javar, S., Farrokhi, S., Asgari, B., Parsi, F. (2019). 'Investigating on the potential of local isolates of entomopathogenic fungi as biological control agents against greenhouse whitefly Trialeurodes vaporariorum', *BioControl in Plant Protection*, 7(1), pp. 127-142. doi: 10.22092/bcpp.2019.121741

Lacatena, F., Marra, R., Mazzei, P., Piccolo, A., Digilio, M.C., Giorgini, M., Woo, S.L., Cavallo, P., Lorito, M., Vinale, F. 2019. Chlamyphilone, a novel Pochonia chlamydosporia metabolite with insecticidal activity. Molecules 24: 1-11.

Lozano-Gutierrez, J., Espana-Luna, M.P. 2008. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) against the White Grub *Laniifera cyclades* (Lepidoptera: Pyralidae) under Field and Greenhouse Conditions. The Florida Entomologist 91: 664-668

Kah, M., Weniger, A. K., Hofmann, T. 2016. Impacts of (Nano)formulations on the fate of an insecticide in soil and consequences for environmental exposure assessment. Environmental Science and Technology 50(20): 10960–10967.

Kairyte, K., Kadys, A., Luksiene, Z. 2013. Antibacterial and antifungal activity of photoactivated ZnO nanoparticles in suspension. J. Photochem. Photobiol. B. 128: 78-84.

Key, F., Maass, G. J. 2008. Ions, atoms and charged particles. Charged Colloids 51(2):12-46.

Maity, D., Agrawal, D. 2007. Synthesis of iron oxide nanoparticles under oxidizing environment and their stabilization in aqueous and non-aqueous media. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 308, pp. 46-55.

Magalhaes, B.P., Lord, J.C., Wraight, S.P., Daoust, R.A., Roberts, D.W. 1988. Pathogencity of *Beauveria bassiana* and *Zoophthor aradicans* to the coccinellid predators *Coleomegilla maculate* and *Eriopsis connexa*. Journal of Invertebrate Pathology, 52: 471-473.

Malekan, N., Hatami, B., Ebadi, R., Akhavan, A., Radjabi, R. 2015. Evaluation of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Lecanicillium muscarium* on different nymphal stages of greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* in greenhouse conditions. Biharean Biologist, 9(2): 108–112.

Martin, N. A. 1999. Whitefly biology, identification and life cycle. Crop and Food Research, Broadsheet No. 91.

Mehrvar, A. 1394. Introduction to pathology and microbial control of pests. Publications of Shahid Madani University of Azerbaijan. Tabriz.

Nel, A., Xia, T., Madler, L., Li., N. 2003. Toxic potential of materials at the nanolevel. Science 311:622-627.

Pappas, M.L., Steppuhn, A., Geuss, D., Topalidou, N., Zografou, A., Sabelis, M.W., Broufas, G.D. 2015. Beyond predation: the zoophytopha-gous predator Macrolophus pygmaeus induces tomato resistance against spider mites. PLoS ONE 10: e0127251

Poprawski, T.J., Legaspi, J.C., Parker, P. 1998. Influence of entomopathogenic fungi on *Serangium parcesetosum* (Coleoptera: Coccinellidae), an important predator of whiteflies (Homoptera: Aleyrodidae). Environmental Entomology 27(3): 785-795.

Pourmirza, A. A. 2005. Local variation in susceptibility of Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) to insecticide. J. Econ. Entomol. 98: 2176-2180.

Pym, A., Singh, K. S., Nordgren, A., Davies, T. G. E., Christoph, Zimmer, T., Elias, J., Slater, R., Bass, C. 2019. Host plant adaptation in the polyphagous whitefly, *Trialeurodes vaporariorum*, is associated with transcriptional plasticity and altered sensitivity to insecticides. BMG Genomics, 20:996. 1-19.

Quesada–Moraga, E., Maranhao, E.A.A., Valverde–Garcıa, P., Santiago–Alvarez, C. 2006. Selection of *Beauveria bassiana* isolates for control of the whiteflies *Bemisia tabaci* and *Trialeurodes vaporariorum* on the basis of their virulence, thermal requirements, and toxicogenic activity. Biological Control, 36: 274–287.

Raja, N., Albert, S., Ignacimuthu, S., Dorn, S. 2001. Effect of plant volatile oils in protecting stored cowpea *Vignaun guiculata* (L.) Walpers against *Callosobruchus maculatus* (F.)(Coleoptera: Bruchidae) infestation.Journal of Stored Products Research, 37: 127 -132.

Rahimpour, F and Salimi, H .(2013). Silver Nanoparticles Applications and Production Methods, The Second National Conference on Nanotechnology from Theory to Application, Isfahan

Reddy, K. M., Feris, K., Bell, J., Wingett, D., Hanley, C., Punnoose, A. 2007. Selective toxicity of zinc oxide nanoparticles to prokaryotic and eukaryotic system. Appl. Phys. Lett. 90: 213902.

Rouhani, M., Samih, M. A., Aslani, A., Beiki, K. 2011. Side effect of nano-ZnO - Tio2 - Ag mix-oxide nanoparticles on Frankliniella occidentalis Pergande (Thys: Thripidae). In Proceedings Symposium: Third International Symposium on Insect Physiology, Biochemistry and Molecular Biology. East China Normal University, Shanghai, China. 2-5.

Rouhani, M., Samih, M. A., Kalantari, S. 2012. Insecticide effect of silver and Zinc nanoparticles against Aphis nerii Boyer de Fonscolombe (Homoptera: Aphididae). Chilean Journal of Agricultural Research, 72(4):590-594.

Roy, H.E., Pell, J.K. 2000. Interactions between entomopathogenic fungi and other natural enemies: implications for biological control. Biocontrol Science & Technology, 10: 737-752.

Samih, M.A., Rouhani, M., Aslani, A., Beiki, Kh. 2011. Insecticidal properties of amitraz, nano-amitraz, nano-ZnO and nano-ZnO-Al2O3 nanoparticles on Agonoscena pistaciae (Hem.: Aphelaridae). p. 131. In Proceedings Symposium: Third International Symposium on Insect Physiology, Biochemistry and Molecular Biology. 2-5 July 2011. East China Normal University, Shanghai, China.

Samuel, U., Guggenbichler, J.P. 2004. Prevention of catheter related infections: The potential of a new nano-silver impregnated catheter. International Journal of Antimicrobial Agents 23S1:S75-S78.

Sang Woo, K., Kim, K.S., Lamsal, K., Kim, Y.J., Kim, S.B., Jung, M. 2009. An in vitro study of the antifungal effect of silver nanoparticles on Oak wilt pathogen Raffaelea sp. Journal of Microbiology and Biotechnology 19:760-764.

Sharaf, N. 1986. Chemical Control of *Bemisia tabaci*. Agriculture, Ecosystems and Environment 17: 111-127.

Sengonca, C., Frings, B. 1985. Interference and competitive behavior of the aphid predators, *Chrysoperla carnea* and *Coccinella septempunctata* in the laborarory. Entomophaga, 30: 245-251.

Seiedy, M., Saboori, A., Allahyari, H., Talaei-Hassanloui R., Tork, M. 2012. Functional response of *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae) on untreated and *Beauveria bassiana*-treated adults of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). Journal of Insect Behavior, 25: 543–553.

Seiedy, M., Saboori, A., Zahedi-Golpayegani, A. 2013. Olfactory response of *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae) to untreated and *Beauveria bassiana*-treated adults of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) on cucumber plants. Experimental and Applied Acarology, 60: 219–227

Shishebor. P. 2002. Whiteflies: Bioecology, pest status and their management. (By Dan Jerling), Ahvaz: Shahid Chamran University, 622 pages.

Smith, P. E. 2009. Whitefly: identification and biology in New Zealand greenhouse tomato crops.

Smith, R.J., Grula R.J. 1982. Toxic components on the larval surface of the corn ear worm (*Heliothis zea*) and their effects on germination and growth of *Beauveria bassiana*. Journal of Invertebrate Pathology 42: 319-326.

Stansly, P.A., Natwick, E.T. 2010: Integrated systems for managing *Bemisia tabaci* in protected and open field agriculture. In Stansly P.A. and Naranjo S.E. (eds): Bemisia: Bionomics and Management of a Global Pest. Springer Science, B.V., pp. 467–497.

Stenseth, C. 1985. Biology of pests and natural enemies. In: N. W. Hussey and N. Scopes. Biological Pest Control. pp. 30-33. Blandford Press.

Sun, Y. P. 1950. Toxicity indexes an improved method of comparing the relative toxicity of insecticides. Journal of Economic Entomology 43: 45–53.

Tafoya, F, Zuñiga-Delgadillo, M., Alatorre, R., Cibrian-Tovar, J., Stanley, D. 2004. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* (Deuteromycota: Hyphomycetes) Againts The Cactus Weevil, *Metamasius spinolae* (Coleoptera: Curculionidae) Under Laboratory Conditions. Florida Entomologist 87: 533-536.

Tanada, Y., Kaya, H.K. 1993. Insect pathology. Academic Press, NY, USA.

Van Lenteren, J. C. Noldus, L. P. J. J: 1990. Whitefly-plant relationships: behavioral and ecological aspects Intercept Ltd. Andover, United Kingdom, 78: 47-89.

Van Roermund, H. J. W., Van Lenteren, J. C. 1992. Life-history parameters of the greenhouse whitefly and the parasitoid *Encarsia formosa*. Wageningen Agricultural University Papers 92(3): 1-147.

Velayutham, K., Abdul Rahuman, A., Rajakumar, G., Roopan, S, M., Elango, G., Kamaraj, CH., Marimuthu, S., Santhoshkumar, TH., Iyappan, M., Siva, CH. 2013. Larvicidal activity of green synthesized silver nanoparticles using bark aqueous extract of Ficus racemosa against *Culex quinquefasciatus* and *Culex gelidus*. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. 95-101.

Zchori-Fein, E., Roush, R. T. Sanderson, J. P. 1994. Potential for integration of biological and chemical control of greenhouse whitefly (Homoptera, Aleyrodidae) using *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae) and abamectin. Environmental Entomology 23: 1277-1282.

Journal of Entomological Research

Volume 13, Issue 3, pages: 177-195

Islamic Azad University, Arak Branch
ISSN 2008-4668
http://jer.iau-arak.ac.ir

Investigation of the effect of silica nanoparticles with the pathogenic fungus *Beauveria bassiana* on the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* Westwood

S. K. Vahedi[1], A. Hosseinzadeh[2*], A. Ghasemi_Kahrizeh[2]

1- West Azerbaijan, Miandoab, Postal Code: 5971654467
2- Islamic Azad University of Mahabad, postal code: 59135433:
3- Islamic Azad University of Mahabad, Postal Code 59135433

Abstract

Introduction: Greenhouse whitefly, as an economic pest, has a wide and ubiquitous host range and causes great damage to many crops, including greenhouse plants. Due to the morphological characteristics and potential of resistance to chemical toxins, it is necessary to find suitable and compatible compounds for integrated control of this pest by increasing the effect and minimizing the adverse effect on the pathogenic fungus *Beauveria bassiana*.

Methods: In this study, the effect of pathogenic fungus *Beauveria bassiana* alone and in combination with silica nanoparticles against second instar seeds and nymphs of *Trialeurodes vaporariorum* Westwood and germination power of pathogenic fungi using probit analysis, one-way analysis of variance and ANOVA SPSS software was examined.

Results: LC_{50} values obtained from probit degradation as a result of the effect of different concentrations of silica nanoparticles and *Beauveria bassiana* against eggs after 7 days and against second instar nymph after 72 hours (643.97 mg / L and 170399 conidia/ ml) and (602.952 mg / L and 78379 conidia/ ml) were obtained, respectively.

Results: According to the results of the present study, silica nanoparticles alone have higher toxicity than other treatments and in combination with *B. bassiana* can be used in integrated control of the important greenhouse whitefly pest. The most important advantage of using these compounds is their compatibility with the environment and the lack of resistance to insects against them.

Keywords: Greenhouse *Trialeurodes vaporariorum* Westwood, Nanoparticles, Silica, *B. bassiana*

* Corresponding Author, E-mail*: mirkazem2012@yahoo.com*
Received: 4 Oct. 2021 – Accepted: 11 Dec. 2021