



جامعة الموصل
كلية التربية للعلوم الصرفة

دراسة تأثير جسيمات اوكسيد الزنك وثنائي اوكسيد التيتانيوم
النانوية وسبورات البكتريا *Bacillus thuringiensis* في
حياتية عثة الشمع الكبرى *Galleria mellonella* L.

دعاء باسم عبدالرحمن علي

أطروحة دكتوراه
علوم الحياة

بإشراف
الأستاذ

الدكتور عدنان موسى محمد

المخلص

أُجريت الدراسة الحالية لمعرفة تأثير المواد النانوية كُمل من أكسيد الزنك النانوي (ZnONPs) وثنائي أكسيد التيتانيوم (TiO₂NPs) عند التراكيز 100، 500، 1000 و 5000 جزء في المليون لكليهما، فضلاً عن استخدام سبورات البكتريا *Bacillus thuringiensis* عند التراكيز 10⁻⁶، 10⁻⁷، 10⁻⁸، و 10⁻⁹ خلية/مل، لمعرفة فعالية المواد آنفاً في التأثير على بعض الالوجه الحياتية ومكافحة حشرة دودة الشمع الكبرى *Galleria mellonella* L. التي تهاجم الأساسات الشمعية لنحل العسل *Apis mellifera*.

تم انجاز الدراسة في مختبر الحشرات /قسم علوم الحياة/ كلية التربية للعلوم الصرفة /جامعة الموصل /2020-2021، وتضمنت معاملة كل طور من أطوار الحشرة على حدى ومتابعة حياته حتى نهايتها وتم حساب نسب القتل للأطوار المختلفة. فعند معاملة البيوض لدودة الشمع *G.mellonella* بالمواد آنفاً وجد بأن نسبة الفقس انخفضت معنوياً 26.0 و 30.0% في معاملي سبورات البكتريا *B. thuringiensis* بتركيز 10⁻⁶ خلية/مل ومعاملة أكسيد الزنك بتركيز 100 ج.ف.م على التوالي، بينما بلغت النسبة المئوية للبيض الفاقس في معاملة المقارنة 83.600%.

كما سببت المعاملة السابقة نسبة قتل معنوية في الطورين اليرقي والعذري، إذ بلغت 78.7 و 64.8%، على التوالي، في معاملة أكسيد الزنك النانوي بتركيز 5000 ج.ف.م، كما سببت معاملة سبورات البكتريا *B. thuringiensis* بتركيز 10⁻⁶ خلية /مل نسبة قتل للطورين 82.1 و 100%، على التوالي، اختلفت النتائج آنفاً معنوياً عن معاملة المقارنة.

كما تم في هذه الدراسة معاملة الطور اليرقي بالمواد النانوية وسبورات البكتريا *B. thuringiensis* وسببت المعاملة إطالة معنوية في مدة الطورين، وزيادة معنوية أيضاً في النسبة المئوية للقتل في الطورين وبلغت أعلى نسبة للقتل في الطور اليرقي 80.1% في معاملة أكسيد الزنك النانوي بتركيز 5000 ج.ف.م. بينما بلغت أعلى نسبة للقتل في الطور العذري 57.1% في معاملة ثنائي أكسيد التيتانيوم بتركيز 5000 ج.ف.م.

تم في هذه التجربة دراسة تأثير معاملة اليرقات على حيوية إناث الجيل الأول فوجد بأن المعاملات أدت إلى خفض معنوي في عدد بيض إناث الجيل الأول إذ بلغ 10.6 و 9.6 بيضة/أنثى في معاملي ثنائي أكسيد التيتانيوم بتركيز 5000 ج.ف.م ومعاملة سبورات البكتريا

B. thuringiensis بتركيز 10^{-6} خلية/مل على التوالي بينما وضعت أنثى المقارنة 323.3 بيضة/أنثى. فضلاً عن ما ذكر آنفاً سببت المعاملات آنفاً احتباساً للبيض في إناث الجيل الأول حيث تراوحت ما بين 81.8 و 95.1 في معاملي سبورات البكتريا *B. thuringiensis* بتركيز 10^{-9} خلية/مل ومعاملة ثنائي أكسيد التيتانيوم بتركيز 5000 ج.ف.م على التوالي.

سببت المعاملة الطور العذري بالمواد النانوية وسبورات البكتريا *B. thuringiensis*، تأثيراً واضحاً على حيويتها إذ أدت المعاملات جلها قتلاً معنوياً للطور العذري بلغ آنفاً 100% في معاملة أكسيد الزنك النانوي بتركيز 100 ج.ف.م، بينما انخفضت معنوياً إلى 38.8% في معاملة سبورات البكتريا *B. thuringiensis* تركيز 10^{-9} ، وكلا المعاملتين اختلفتا معنوياً عن معاملة المقارنة 5.28%، كما سببت هذه المعاملات (معاملة الطور العذري) إلى خفض معنوي في عدد الحشرات البازغة.

أمّا في تجربة أثر معاملة الحشرات الكاملة بالمواد النانوية وسبورات البكتريا *B. thuringiensis*، فقد لوحظ أنّ هذه المعاملات شأنها شأن المعاملات السابقة حيث أثرت تأثيراً واضحاً في حيوية الأطوار الناتجة من هذه الحشرات إذ أدت المعاملة خفصاً معنوياً في عدد ونسبة البيض الفاقس للإناث المعاملة وبلغ 30 بيضة/أنثى و 32.6%، على التوالي، في معاملة أكسيد الزنك النانوي بتركيز 5000 ج.ف.م، علماً بان عدد البيض ونسبة الفقس في معاملة المقارنة بلغت 350 بيضة/أنثى، 84.3% على التوالي .

أنّ المعاملة السابقة أثرت أيضاً في النسبة المئوية للقتل للطورين اليرقي والعذري بلغت أعلى نسبة 55.9 و 32.3%، على التوالي، في معاملة ثنائي أكسيد التيتانيوم تركيز 5000 ج.ف.م، كما سببت المعاملة خفض معنوي في عدد الحشرات البازغة بلغ 30.66 حشرة.

تم في هذه الدراسة أيضاً معرفة التأثير الجاذب والطارد للمواد النانوية وسبورات البكتريا *B. thuringiensis* المستخدمة فظهر ان لها تأثيراً واضحاً إذ أعطت معاملة ثنائي أكسيد التيتانيوم تركيز 100 ج.ف.م نسبة طرد مقدارها 70% وبمعدل موازنة وصل إلى 44.7-.

سببت المعاملات تشوهات مظهرية لأطوار الحشرة المختلفة إذ سببت معاملة البيض إلى وجود يرقات لم تتحول إلى عذارى وصلت نسبتها 25.6% في معاملة سبورات البكتريا *B. thuringiensis* تركيز 10^{-9} خلية/مل، وأيضاً حصول تشوهات مختلفة في الطور العذري وصلت نسبتها 22.9% في معاملة سبورات البكتريا *B. thuringiensis* عند التركيز

10^{-6} خلية/مل ، وبلغت 44.9% في معاملة الطور اليرقي بسبورات البكتريا *B. thuringiensis* عند التركيز 10^{-8} خلية/مل، فضلاً عن ذلك ظهرت تشوهات مظهرية واضحة في الحشرات الكاملة خاصة تشوه في الأجنحة وفي معظم المعاملات بلغت 40% في معاملة سبورات البكتريا *B. thuringiensis* عند التركيز 10^{-7} خلية/مل.

تعرضت مبييض دودة الشمع الكبرى *G.melonella* التي سبق ان عومل أطوارها بالمواد النانوية قيد الدراسة الحالية وسبورات البكتريا *B. thuringiensis* إلى عدد من التشوهات السلبية كما أظهرت المقاطع النسيجية منها حصول تفكك في الخلايا الحويصلية المحيطية وانفصالها أو اضمحلالها واختفائها أحياناً أخرى كما سببت بعض المعاملات ضرراً في المبييض، هذه الأعراض هي التي سببت خفض في حيوية الإناث وانخفاض في عدد والنسبة المئوية للبيض الفاقس.

Abstract

The aim of this study was conducted to find out the effect of nanomaterials of zinc oxide nanoparticles (ZnONPs) and titanium dioxide (TiO₂NPs) at concentrations 100, 500, 1000 and 5000 Parts per million for both, as well as using spores of the bacteria *Bacillus thuringiensis* at concentrations 10⁻⁶, 10⁻⁷, 10⁻⁸ and 10⁻⁹ cells. / ml, to know the effectiveness of the above materials in affecting the some biological aspects and control of the insect *Galleria mellonella* L., which attacks the waxy bases of honey bees *Apis mellifera* .

The practical study was conducted in the insect lab of the Department of Biology/ College of Education for Pure Sciences at Mosul University 2020-2021 . were obtained each stage of the insect was treated separately and its life was followed up to its end, and the mortality for the different stages were calculated. When the eggs of the Greater wax moth *G.mellonella* were treated with the above materials, it was found that the hatchability decreased significantly by 26.0 and 30.0% in the two treatments of the bacterial spores *B. thuringiensis* at a concentration of 10⁶ cells/ml and zinc oxide at a concentration of 100 ppm, respectively, while the percentage of hatched eggs in the treatment of *G. mellonella* was significantly reduced. The comparison is 83.6%.

The previous treatment also caused a significant mortality in the larval and pupal stages, which reached 78.7 and 64.88%, respectively, in the treatment of nano-zinc oxide at a concentration of 5000 ppm, The treatment of *B. thuringiensis* spores at a concentration of 10⁻⁶ cells/ml caused a death rate of 82.1 and 100. 0% for both stages. respectively, the above results differed significantly from the comparison treatment.

In this study, the larval stage was treated with nanomaterials and spores of the bacteria *B. thuringiensis*. The treatment caused a significant prolongation in the duration of the two instars, and a significant increase

in the percentage of killing in the two instars. The highest percentage of killing in the larval stage was 80.10% in the nano zinc oxide treatment at a concentration of 5000 ppm. While the highest rate of killing in the pupal stage was 57.1% in the treatment of titanium dioxide at a concentration of 5000ppm.

In this experiment, the effect of larval treatment on the vitality of the females of the first generation was studied. It was found that the treatments led to a significant reduction in the number of eggs of the first generation females, which amounted to 10.6 and 9.6 eggs/female in the two treatments of titanium dioxide at a concentration of 5000 ppm and the treatment of bacterial spores. *B. thuringiensis* at a concentration of 10^{-6} cells/ml, respectively, while the control female laid 323.3 eggs/female. In addition to what was mentioned above, the above treatments caused egg retention in females of the first generation ranging between 81.8 and 95.1 in the two *B. thuringiensis* spores treatments at a concentration of 10^{-9} cells/ml and the titanium dioxide treatment at a concentration of 5000 ppm, respectively.

In present study, the pupae were also treated with nanomaterials and spores of the bacteria *B. thuringiensis*, and this treatment had a clear effect on its vitality, as most of the treatments resulted in a significant death of the pupae that reached 100% in the nano zinc oxide treatment at a concentration of 100 ppm, while it decreased Significantly to 38.8% in the *B. thuringiensis* spores treatment with a concentration of 10^{-9} , and both treatments were significantly different from the control treatment by 5.2%, and these treatments (the pupae treatment) caused a significant reduction in the number of emerging insects.

As for the experiment of the effect of treating whole insects with nanomaterials and spores of *B. thuringiensis*, it was obvious from this study these treatments, like the previous treatments, had a clear impact on

the vitality of the stages produced by these insects, as the treatment led to a significant reduction in the number and percentage of hatched eggs for the treated females, reaching 30 eggs/ Female and 32.6%, respectively, in the nano-zinc oxide treatment with a concentration of 5000 ppm, knowing that the number of eggs and hatchability in the control treatment was 350 eggs/female, 84.38%, respectively.

The previous treatment also affected the percentage of larval and pupal mortality, which reached the highest percentage of 55.9 and 32.3%, respectively, in the treatment of titanium dioxide concentration of 5000 ppm. The treatment also caused a significant reduction in the number of emerging insects, which amounted to 30.6 insects.

In the current study, the attractive and repellent effect of nanomaterials and spores of the bacteria *B. thuringiensis* used was also known, and it appeared that they had a clear effect, as the titanium dioxide treatment gave a concentration of 100 ppm, an expulsion rate of 70%, and an equilibration rate that reached (-44.7).

The treatments caused gross distortions of the different stages of the insect, as the treatment of eggs caused the presence of larvae which couldn't transform into pupae, and a rate of 25.66% in the treatment of *B. thuringiensis* spores, a concentration of 10^{-9} cells/ml, and different deformations in the pupal stage, which reached a rate of 22.9% in the treatment of bacterial spores *B. thuringiensis* at a concentration of 10^6 cells/ml, and it amounted to 44.9% in the treatment of the larval stage with bacterial spores *B. thuringiensis* at a concentration of 10^{-8} cells/ml, in addition to that, obvious gross distortions appeared in the adults, especially the distortion of the wings, and in most treatments it amounted to 40% in the treatment of spores. The bacteria *B. thuringiensis* at a concentration of 10^{-7} cells/ml. The ovaries of the Greater Wax moth *G.melonella*, the stages of which were previously treated with

nanomaterials under the current study and the spores of *B. thuringiensis*, were subjected to a number of negative deformations. Histological sections showed disintegration in the peripheral vesicular cells and their separation, decay and disappearance at other times, as some of the treatments caused Damage to the ovaries, these symptoms are what caused a decrease in female vitality and a decrease in the number and percentage of egg hatchability.

**University of Mosul
College of Education
for Pure Science**



**Study of the effect of Zinc oxide and Titanium
Dioxide Nanoparticles and *Bacillus thuringiensis*
spores on the life of the Greater wax moth
Galleria mellonella L.**

Doaa Basim Abdul Rahman Ali

**Ph.D. thesis
Biology**

**Supervised by
Prof.
Dr. Adnan Moosa Muhammed**

2022 A.D.

1444 A.H.