بسم الله الرحمن الرحيم

مدیریت تحصیلات تکمیلی

**دانشکده کشاورزی**

**گروه گیاهپزشکی**

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته حشره‌شناسی کشاورزی

# ارزیابی بیمارگری *Beauveria bassiana* و اثر سمیت نانوذرات اکسید روی بر سفید بالک گلخانه *Trialeurodes vaporariorum* (Hem.: Aleyrodidae)

استاد راهنما

دکتر نجمه صاحب‌زاده

اساتید مشاور

دکتر منصور غفاری‌مقدم

دکتر علی میرشکار

**تهیه و تدوین**

زهرا خوشه‌بست

**دی ۹۳**

با احترام تقدیم به:

پدرم، اولین استادم، که همواره چتر محبتش بر سرم است

بزرگواری که الفبای زندگی را از او آموختم

مادرم، بلندترین تکیه‌گاهم که دامان پرمهرش، یگانه پناهم است

مهربانی که عشق ورزیدن را از او آموختم

و

آموزگارانی که برایم زندگی، بودن و انسان بودن را معنا کردند

## ن وَالْقَلَمِ وَمَا يَسْطُرُونَ

به نام خداوندی که انسان را با قلم عشق نقاشی نمود، آنگاه ناقوس خلقت نواخته شد و آدمی رنگ حیات به خود گرفت، سپس تعلیم و تهذیب را سرلوحه تکامل او قرار داد.

نخستین سپاس و ستایش از آن خداوندی است که بنده کوچکش را در دریای بیکران اندیشه، قطره‌ای ساخت تا وسعت آن را از دریچه اندیشه‌های ناب آموزگارانی بزرگ به تماشا نشیند. لذا اکنون که در سایه سار بنده نوازی هایش پایان نامه حاضر به انجام رسیده است، بر خود لازم می دانم تا مراتب سپاس را از استاد باکمالات و شایسته سرکار خانم دکتر نجمه صاحب زاده که در کمال سعه صدر، با حسن خلق و فروتنی از هیچ کمکی در این عرصه بر من دریغ ننمودند و در طول مسیر همراه و همگام من بوده اند و زحمت راهنمایی این رساله را بر عهده گرفتند، به جای آورم.

از اساتید گرانقدر و فرهیخته‌ام، جناب آقای دکتر منصور غفاری مقدم و جناب آقای دکتر علی میرشکار که زحمت مشاوره این پایان نامه را متحمل شدند کمال تشکر و قدردانی را دارم.

از پدر و مادر گرامی‌ام و خواهر و برادران عزیزم به پاس عاطفه سرشار و گرمای امیدبخش وجودشان که در طول این مدت، بهترین پشتیبانم بودند، خالصانه سپاسگزاری می کنم.

و در پایان از اساتید بزرگوار جناب آقای دکتر عباس خانی و جناب آقای دکتر مهدی پیرنیا و همچنین تمامی دوستانم که با راهنمایی‌های خود راهگشای اینجانب بوده اند صمیمانه تشکر می نمایم.

## چکیده

سفید بالک گلخانه *Trialeurodes vaporariorum* یکی از آفات مهم گیاهان زراعی و زینتی در مزارع و گلخانه‌ها است که معمولا با سموم شیمیایی و یا عوامل بیولوژیک کنترل می‌شود. در مطالعه حاضر تاثیر جداگانه نانوذرات سنتز شده اکسید روی (ZnO) و بیمارگری جدایه قارچی *Beauveria bassiana* TS11 روی حشرات کامل *T. vaporariorum* ارزیابی شد. نانوذرات اکسید روی به روش رسوب‌گذاری سنتز شد و با استفاده از پراش پرتو ایکس (XRD)، تبدیل فوریه مادون قرمز (FT-IR) و میکروسکوپ الکترونی روبشی انتشار زمینه (FESEM) توصیف شدند. تصاویر FESEM، نانوذرات اکسید روی غیر متراکم شده بطور یکنواخت را به وضوح نشان داد. نتایج XRD، وجود نانوکریستال‌های اکسید روی با ساختار ورتزیت هگزاگونال و میانگین اندازه ۲۳/۳۴ نانومتر را تاییدکرد. آنالیزهای FT-IR جذب شدید در محدوده $cm^{-1}$ ۵۵۵- ۴۳۵ مربوط به پیوند Zn-O را نشان داد. در آزمایشات زیست‌سنجی، حشرات کامل سفید بالک گلخانه در معرض غلظت‌های ۳، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر از نانوذرات سنتز شده ZnO و $۱۰^{۴}$، $۱۰^{۵}$، $۱۰^{۶}$، $۱۰^{۷}$ و $۱۰^{۸}$ اسپور بر میلی‌لیتر از *B. bassiana* TS11 با روش پاشش تعلیقی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که مقدار $LC_{50}$ برای نانوذرات ZnO و جدایه قارچی *B. bassiana* TS11 به ترتیب ۷/۳۵ میلی گرم بر لیتر و $۳/۲۸\times۱۰^{۵}$ اسپور بر میلی‌لیتر بود. علاوه بر این مقادیر $LC_{25}$ نانوذارت ZnO و جدایه قارچی به ترتیب ۳/۷۶ میلی‌گرم بر لیتر و $۰/۱۰۶\times۱۰^{۵}$ اسپور بر میلی‌لیتر به دست آمد. میزان مرگ و میر با نانوذرات ZnO و *B. bassiana* TS11 در بالاترین غلظت به ترتیب ۹۱/۶٪ و ۸۸/۸٪ بود. نتایج نشان می‌دهد که نانوذرات سنتز شده ZnO و *B. bassiana* TS11 تاثیر خوبی روی حشرات کامل سفید بالک گلخانه داشته و پتانسیل لازم به عنوان یک روش موثر مبارزه با این آفت را دارند. این مطالعه تحت شرایط آزمایشگاهی انجام گرفته است، بنابراین می‌توان پس از انجام آزمایشات تکمیلی در مزرعه از پتانسیل این عوامل در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات استفاده نمود.



**کلمات کلیدی:** قارچ بیماری گر حشرات، نانوذره، اکسید فلزی، حشره کش، زیست سنجی

۱- فصل اول: مقدمه و کلیات ۲
۱-۱- مقدمه ۳
۲- فصل دوم: مروری بر مطالعات انجام شده ۱۰
۲-۱- شکل شناسی و زیست شناسی حشرات کامل سفید بالک گلخانه ۱۱
۲-۲- خسارت ۱۴
۲-۳- مبارزه شیمیایی با سفید بالک‌ها ۱۵
۲-۴- مدیریت زیستی حشرات آفت با استفاده از قارچ‌های بیمارگر حشرات ۱۵
۲-۵- رده بندی قارچ‌های بیمارگر حشرات ۱۹
۲-۶- نحوه آلوده سازی حشرات توسط قارچ‌های بیمارگر ۲۰
۲-۷- *Beauveria bassiana* ۲۳
۲-۷-۱- جایگاه *Beauveria bassiana* در علم رده‌بندی ۲۵
۲-۸- تولید و تجاری‌سازی قارچ‌های بیمارگر حشرات: ۲۸
۲-۹- مروری بر مطالعات انجام شده در زمینه فعالیت حشره‌کشی *B. bassiana* ۳۱
۲-۱۰- مزایای کاربرد قارچ‌های بیمارگر حشرات به عنوان حشره‌کش ۳۵
۲-۱۱- معایب کاربرد قارچ‌های بیمارگر حشرات ۳۶
۲-۱۲- فناوری نانو ۳۷
۲-۱۳- مقیاس یک نانومتر و اهمیت این مقیاس ۳۷
۲-۱۴- نانو ساختارها ۳۸
۲-۱۵- نانوذرات ۴۰
۲-۱۶- نانوذرات اکسید روی ۴۰
۲-۱۷- روش‌های سنتز نانومواد ۴۲
۲-۱۸- روش‌های سنتز نانوذرات اکسید روی ۴۳
۲-۱۹- متداول‌ترین روش‌های شناسایی نانوذرات ۴۴
۲-۱۹-۱- روش‌های تصویربرداری و میکروسکوپی ۴۵
۲-۱۹-۲- مطالعات ساختاری توسط تفرق و پراش پرتوهای ایکس ۴۹
۲-۱۹-۳- تبدیل فوریه مادون قرمز ۵۰
۲-۲۰- نقش فناوری نانو در کشاورزی با اشاره خاص به مدیریت حشرات آفت ۵۲
۲-۲۱- نقش فناوری نانو در کنترل ناقلین بیماری‌ها ۵۸
۲-۲۲- خاصیت باکتری‌کشی و قارچ‌کشی نانوذرات ۶۰
۳- فصل سوم: مواد و روش‌ها ۶۳
۳-۱- جمع‌آوری و پرورش آزمایشگاهی حشرات ۶۴
۳-۲- هم سن‌سازی مراحل مختلف زندگی آفت ۶۶

۳-۳- نانوذرات اکسید روی ۶۷
۳-۳-۱- تجهیزات مورد استفاده در سنتز نانوذرات اکسید روی ۶۷
۳-۳-۲- مواد مصرفی ۶۸
۳-۳-۳- سنتز نانوذرات اکسید روی ۶۸
۳-۳-۴- زیست‌سنجی مقدماتی نانوذرات اکسید روی ۷۰
۳-۳-۵- تعیین غلظت کشنده نانوذرات اکسید روی ۷۱
۳-۴- عامل بیمارگر قارچی ۷۳
۳-۴-۱- تهیه جدایه‌ی قارچی ۷۳
۳-۴-۲- کشت و نگهداری جدایه قارچی مورد نظر ۷۳
۳-۴-۳- مطالعه شکل‌شناسی جدایه قارچی ۷۵
۳-۴-۴- تهیه مایه تلقیح ۷۶
۳-۴-۵- آزمایش مقدماتی قارچ ۷۷
۳-۴-۶- بیمارگری جدایه قارچی ۷۸
۳-۴-۷- تعیین غلظت کشنده جدایه قارچی ۷۸
۴- فصل چهارم: نتایج و بحث ۸۰
۴-۱- پرورش حشره ۸۱
۴-۲- اثر سمیت نانوذرات سنتز شده ZnO بر سفید بالک گلخانه ۸۲
۴-۲-۱- آنالیز FESEM ۸۲
۴-۲-۲- آنالیز XRD ۸۲
۴-۲-۳- آنالیز FT-IR ۸۴
۴-۲-۴- اثرات حشره‌کشی نانوذرات سنتز شده ZnO بر *T. vaporariorum* ۸۵
۴-۲-۵- بحث ۸۷
۴-۳- ارزیابی بیمارگری جدایه قارچی *Beuveria bassiana* TS11 بر سفید بالک گلخانه ۹۳
۴-۳-۱- کشت و نگهداری جدایه قارچی ۹۳
۴-۳-۲- مطالعات قارچ‌شناسی ۹۴
۴-۳-۳- اثبات بیماری‌زایی جدایه قارچی ۹۵
۴-۳-۴- نتایج بیمارگری *B. bassiana* TS11 بر سفید بالک گلخانه ۹۵
۴-۳-۵- بحث ۹۸
۴-۴- نتیجه‌گیری کلی ۱۰۵
۴-۵- پیشنهادها ۱۰۵
۵- منابع ۱۰۶

شکل ۱-۲ گونه *T. vaporariorum* به ترتیب از راست به چپ، تخم، شفیره و حشره کامل ..... ۱۲
شکل ۲-۲ گونه *B. tabaci* به ترتیب از راست به چپ، تخم، شفیره و حشره کامل ..... ۱۲
شکل ۳-۲ نحوه نفوذ قارچ به داخل کوتیکول حشره ..... ۲۲
شکل ۴-۲ جایگاه *B. bassiana* در رده‌بندی ..... ۲۶
شکل ۵-۲ شکل شماتیکی از سیستم تولیدکننده اسپور در *B. bassiana* ..... ۲۷
شکل ۶-۲ مقایسه روش بالا به پایین و پایین به بالا در تولید نانو مواد ..... ۴۳
شکل ۷-۲ میکروسکوپ الکترونی روبشی.انتشار زمینه (FESEM) مدل Hitachi S4160 ..... ۴۷
شکل ۸-۲ میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) ..... ۴۹
شکل ۹-۲ تبدیل فوریه مادون قرمز مدل TENSOR 27 ..... ۵۱
شکل ۱۰-۲ شکل شماتیکی از مورفولوژی نانوذرات مختلف ..... ۵۵
شکل ۱-۳ گیاهان لوبیا سبز جهت پرورش سفید بالک گلخانه ، دستگاه رطوبت سنج- دماسنج ..... ۶۵
شکل ۲-۳ پرورش سفید بالک گلخانه بر روی برگ‌های لوبیا سبز ..... ۶۵
شکل ۳-۳ مراحل ساختن قفس‌های کوچک برای انجام آزمایش‌ها ..... ۶۷
شکل ۴-۳ قفس‌های کوچک مورد استفاده در طول انجام کار برای هم‌سن کردن مراحل زیستی سفیدبالک ..... ۶۷
شکل ۵-۳ شمائی از سنتز نانوذرات اکسید روی در حمام آب‌گرم ..... ۶۹
شکل ۶-۳ نانوذرات اکسید روی سنتز شده ..... ۶۹
شکل ۷-۳ قفس‌های برگی مورد استفاده جهت انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی ..... ۷۱
شکل ۸-۳ غلظت‌های نهایی نانوذرات اکسید روی سنتز شده ..... ۷۲
شکل ۹-۳ زیست‌سنجی نانوذرات اکسید روی ..... ۷۳
شکل ۱۰-۳ لام گلبول شمار (Hemocytometer) ..... ۷۷
شکل ۱۱-۳ لیوان‌های حاوی آب-آگار و برگ لوبیا سبز جهت تامین رطوبت ۸۰٪ جوانه‌زنی کنیدی‌ها ..... ۷۸
شکل ۱۲-۳ غلظت‌های به کار رفته سوسپانسیون قارچ در زیست‌سنجی نهایی ..... ۷۹
شکل ۱-۴ تصویر FESEM نانوذرات اکسید روی سنتز شده ..... ۸۲
شکل ۲-۴ طیف XRD نانوذرات اکسید روی سنتز شده ..... ۸۴
شکل ۳-۴ طیف FT-IR نانوذرات اکسید روی سنتز شده ..... ۸۵

شکل ۴-۴ میانگین درصد مرگ و میر حشرات کامل *T. vaporariorum* ۲۴ ساعت پس از کاربرد نانوذرات..... ۸۶
شکل ۵-۴ محیط کشت حاوی *B. bassiana* (نمونه کشت آزمایشگاهی)..... ۹۴
شکل ۶-۴ اسلاید تهیه شده از کنیدی‌ها در *B. bassian* TS11..... ۹۵
شکل ۷-۴ میانگین درصد مرگ و میر حشرات کامل *T. vaporariorum* ۱۰ روز پس از آلودگی *B. bassiana*... ۹۷
شکل ۸-۴ مرگ و میر حشرات کامل *T. vaporariorum* در مدت ۱۰روز پس از آلودگی با جدایه قارچی..... ۹۷
شکل ۹-۴ سفید بالک آلوده به *B. bassiana* TS11..... ۹۸
شکل ۱۰-۴ اسلاید کنیدی‌های جدا شده از بدن حشره..... ۹۸

جدول ۱-۲ تمایزهای بین *T. vaporariorum* و *B. tabaci* ..... ۱۳
جدول ۲-۲ انواع مختلفی از عوامل کنترل بیولوژیک حشرات ..... ۱۸
جدول ۳-۲ میزبان‌های قارچ *Beauveria bassiana* ..... ۲۵
جدول ۴-۲ فرآورده های فعال زیستی به دست آمده از دو گونه قارچی *B. basiana* و *B. brongniartii* ..... ۳۰
جدول ۵-۲ طبقه‌بندی نانو مواد بر اساس اندازه ..... ۳۹
جدول ۶-۲ روش‌های رایج مورد استفاده در سنتز نانوذرات اکسید روی ..... ۴۴
جدول ۱-۳ غلظت‌های نهایی تهیه شده از نانوذرات اکسید روی ..... ۷۱
جدول ۲-۳ محیط کشت SDA ..... ۷۳
جدول ۳-۳ محیط کشت PDA ..... ۷۴
جدول ۴-۳ ترکیبات تشکیل دهنده محلول لاکتوفنل کاتن‌بلو ..... ۷۵
جدول ۱-۴ غلظت های کشندگی و زیر کشندگی نانوذرات ZnO بر سفیدبالک گلخانه ..... ۸۶
جدول ۲-۴ غلظت های کشندگی و زیر کشندگی *B. bassiana* TS 11 بر سفید بالک گلخانه ..... ۹۶

# فصل اول

# مقدمه و کلیات

**۱-۱- مقدمه**

سفید بالک‌ها (Hemiptera:. Aleyrodidae) از آفات با اهمیت اقتصادی هستند که در اکثر مناطق دنیا وجود دارند (Brown *et al*., 1995; Gerling, 1986). اگر چه تاکنون بیش از ۱۵۵۶ گونه سفیدبالک از سراسر دنیا گزارش شده است (Martin and Mound, 2007) اما در بین گونه های مختلف سفید بالک ها، *Bemisia tebaci* و *Trialeaurodes vaporariorum*، به دلایل پراکنش وسیع، دامنه میزبانی گسترده و انتقال ویروس‌های گیاهی به مراتب بیشتر از سایر گونه ها دارای اهمیت اقتصادی هستند و امروزه به یکی از مشکلات تولید محصولات جالیزی، زینتی و صیفی جات در گلخانه ها تبدیل شده‌اند (Perabhaker *et al*.,1998).

سفید بالک گلخانه *T. vaporariorum*، آفتی با انتشار جهانی می باشد که می تواند به سرعت و بدون وقفه، به منظور افزایش نسل های سالیانه تحت شرایط گلخانه‌ای تکثیر پیدا کند. به موازات تکثیر این حشره، خسارت آفت به دو صورت مستقیم و غیر مستقیم اعمال می شود. خسارت مستقیم این آفت با تغذیه از برگ‌ها و خسارت غیر مستقیم از طریق توسعه رشد قارچ فوماژین بر روی ترشحات عسلک و انتقال ویروس‌های مهم گیاهی ایجاد می شود (Faria and Wraight, 2001; Varma and Malathi, 2003; Mckee *et al*., 2007; Guevara-Coto *et al*., 2011).

با وجود پیشرفت های مهم در زیست شناسی سفید بالک گلخانه، تنها اقدامات محدودی جهت کنترل این حشره در دسترس است. حفاظت از محصول همراه با به کار گیری برنامه های کاربردی مکرر استفاده از آفتکش‌ها، باعث ایجاد فشار انتخابی بالا در جمعیت حشره می‌شود که این امر مهمترین عامل در توسعه مقاومت حشره نسبت به آفتکش‌ها است. کاربرد انواع مختلفی از سموم

شیمیایی در طی سال‌های گذشته منجر به مقاومت آفات، سمیت برای محیط زیست، آلودگی آب‌های سطحی و زیر زمینی، ایجاد مشکل در صنعت شیلات، نامناسب کردن شرایط زیستی برای میکروارگانیزم‌های ریزوسفر و اثرات مضر در سلامتی انسان شده است (Butt *et al*., 2001).

در میان روش‌های مختلف مدیریت آفات، کنترل شیمیایی از زمان ایجاد آفتکش‌های آلی مصنوعی، بعد از جنگ جهانی دوم، روش غالب بوده است. استفاده از ارقام مقاوم گیاه، کنترل بیولوژیک، کنترل زراعی و سایر روش‌های کنترل با پایه زیستی، فقط به میزان کم در سیستم‌های زراعی به کار گرفته شده‌اند (عباسی پور، ۱۳۸۷).

فشارها برای کاهش استفاده از آفتکش‌ها و افزایش کاربرد تاکتیک‌های کنترل غیر شیمیایی سبب شده است که امروزه کنترل بیولوژیک به عنوان بخشی از علوم، بسیار مورد توجه قرار گیرد و به عنوان راهکاری برای حل مسأله‌ی کاربرد وسیع آفتکش‌های شیمیایی محسوب شود ( Ghanbary *et al*., 2009; Thomas and Red, 2007).

مطالعات بسیاری در رابطه با کاربرد عوامل بیولوژیکی مانند حشرات شکارگر، پارازیتوئیدها و عوامل بیماری‌زا (شامل باکتری‌ها، نماتدها، پروتوزواها، ویروس‌ها و قارچ‌ها) جهت کنترل حشرات آفت از جمله سفید بالک‌ها صورت گرفته است (Liu *et al*. 2002 ; Nielsen and Steenberg, 2004). برخی از دشمنان طبیعی سفید بالک‌ها مانند زنبور پارازیتوئید *Encarsia Formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae) با موفقیت جهت انجام کنترل بیولوژیک استفاده شده‌اند (Balliu and Cota, 2004)، با این حال معرفی برخی از شکارچیان و پارازیتوئیدها به مناطق جدید ممکن است با مشکلاتی از قبیل عدم سازگاری با شرایط آب و هوایی همراه باشد، بنابراین جهت رفع این مشکلات باید عواملی مانند شرایط آب و هوایی برای سازگاری گونه‌ها و همچنین اثر متقابل میزبان-شکارگر یا میزبان-پارازیتوئید در نظر گرفته شوند. استفاده از

بیمارگرها در کنترل بیولوژیک روش دیگری برای حفاظت از گیاه می‌باشد. در واقع کاربرد بیمارگرها در کنار دشمنان طبیعی می‌تواند کنترل بیولوژیک را کامل کند و در زمانی که پارازیتوئیدها و شکارگرها قادر به حفظ جمعیت آفت به زیر سطح آستانه خسارت نباشند، تاثیر عامل بیمارگر می‌تواند از گیاه مورد نظر محافظت کند. بیمارگرهای خانواده Aleyrodidae به قارچ‌ها محدود می‌شوند زیرا آنها تنها موجودات زنده‌ای هستند که قادرند به کوتیکول حشره نفوذ کنند و باعث آلوده کردن این حشرات مکنده گیاه شوند. به عبارت دیگر بیمارگرهای قارچی دارای فعالیت تماسی بوده و برای کنترل تعدادی از آفات به خصوص حشرات مکنده شیره گیاهی مانند شته‌ها و سفید بالک‌ها که توسط سایر آفتکش‌های زیستی ( مثل باکتری‌ها و ویروس‌ها) آلوده نمی‌شوند، مفید هستند (Feransen, 1990; Zizka and Weiser 1993; Waight *et al*., 2000).

کاربرد قارچ‌های بیمارگر حشرات به عنوان جایگزین‌هایی برای حشره‌کش‌های شیمیایی، دارای مزایایی از قبیل عدم سمیت برای انسان و سایر موجودات غیر هدف، کاهش باقی مانده سموم در محیط زیست و مواد غذایی، حفاظت از دشمنان طبیعی و افزایش تنوع زیستی در اکوسیستم‌ها می‌باشد (Lacey *et al*., 2001). متاسفانه یک مانع عمده برای توسعه قارچ‌های بیمارگر حشرات به عنوان حشره‌کش‌های زیستی این است که در مقایسه با حشره‌کش‌های شیمیایی به یک زمان طولانی (۵-۱۰ روز) برای کنترل حشرات نیاز دارند که در طی این زمان حشره آفت می‌تواند آسیب‌های جدی به گیاه وارد کند (St. Leger and Screen, 2001).

علاوه بر این در اکثر موارد بیشتر کنیدی‌های قارچی به اشعه ماوراء بنفش بسیار حساس‌اند و آن دسته از کنیدی‌هایی که در معرض نور خورشید قرار می‌گیرند عمر کوتاهی دارند. نیمه عمر برخی از کنیدی‌هایی که در معرض نور مستقیم خورشید قرار می‌گیرند، می‌تواند در حد چند دقیقه باشد. عموما دوام کنیدی‌ها در زیستگاه‌های سایه‌دار و در خاک بیشتر است. در مقایسه با آن کنیدی‌های استراحتی با دیواره‌های ضخیم، که توسط گونه‌هایی از اوومیست، زیگومیست و برخی

آسکومیست‌ها تولید می‌شوند، قادر به دوام طولانی مدت، برای سال‌ها و تحت شرایط نامطلوب هستند (Butt *et al*., 2001).

عوامل محدود کننده‌ای از قبیل موارد فوق، سبب شده است که پذیرش این بیمارگرها، با این برداشت کشاورزان که در مقایسه با ترکیبات شیمیایی به سرعت تأثیر نمی‌گذارند و اثر آنها کمتر است، محدود شود (Inglis *et al*., 2001; Wraight *et al*., 2000). محدودیت‌های ذکر شده و کاهش تاثیر برخی از روش‌های کنترل آفات، منجر به توسعه روش‌های مدرن برای مدیریت حشرات آفت شده است. تغییر در فناوری‌های کشاورزی یک عامل عمده شکل‌گیری کشاورزی مدرن است. در میان جدیدترین نوآوری‌های تکنولوژیکی، فناوری نانو، جایگاه برجسته‌ای را در ایجاد تغییر و تحول در کشاورزی و تولید مواد غذایی کسب کرده است. توسعه و کاربرد نانومواد می‌تواند راهکارهای جدیدی را در بیوتکنولوژی گیاهی و کشاورزی پدید آورد ( Scrinis and Lyons, 2007). امروزه راهکارهای مرسوم کنترل آفات مانند مدیریت تلفیقی آفات که در کشاورزی استفاده می‌شوند، به تنهایی کافی نیستند و از طرفی اثرات سوء کاربرد آفتکش‌های شیمیایی سبب شده است که فناوری نانو جایگزین‌های کار آمدی را برای مدیریت آفات در کشاورزی فراهم کند بدون اینکه آسیبی به طبیعت برسانند (Rai and Ingle, 2012).

پتانسیل و مزایای استفاده از فناوری نانو در صنعت کشاورزی بسیار زیاد است. این خدمات شامل مدیریت آفات از طریق فرمولاسیون نانو آفتکش‌ها، افزایش تولیدات کشاورزی با استفاده از نانوذرات زیستی مزدوج شده برای انتشار آهسته آب و مواد مغذی، انتقال ژن یا DNA با میانجیگری نانوذرات در گیاهان جهت توسعه مقاومت گیاه به حشرات آفت و در نهایت استفاده از نانو مواد برای تهیه انواع حسگرهای زیستی که می‌توانند به عنوان یک دستگاه سنجش از راه دور برای کشاورزی مدرن و یا به عنوان حسگرهای تشخیص باقی مانده سموم در محیط زیست عمل کنند، می‌باشد (Rai and Ingle, 2012).

اخیرا با استفاده از روش‌های مختلف، انواع مختلفی از نانوذرات سنتز می‌شوند که در زمینه‌های مختلف پزشکی، علوم زیستی، کشاورزی، الکترونیک و انرژی به کار برده می‌شوند (Moraru *et al*., 2003). نانوذرات به دلیل اندازه کوچک، دارا بودن سطح زیاد نسبت به حجم، خواص فیزیک و شیمیایی و ویژگی‌های منحصر به فرد الکتریکی، مکانیکی و حرارتی، مورد توجه بسیاری از محققین قرار گرفته‌اند و به تازگی فعالیت ضد میکروبی بسیاری از این نانوذرات در برابر بیمارگرهای مختلفی مانند باکتری‌ها و قارچ‌ها مورد آزمایش قرار گرفته است (Kumar *et al*., 2010).

اکثر نانوذراتی که تولید می‌شوند، نانوذرات فلزی از قبیل نانوذرات اکسید روی، تیتانیوم دی اکسید، منیزیم اکسید و نقره، بیشترین جایگاه را در تولید نانو مواد به خود اختصاص داده‌اند (Kumar *et al*., 2010). از مزایای کاربرد نانوذرات اکسیدهای فلزی مانند اکسید روی و تیتانیوم دی اکسید، می‌توان به عدم پایداری آنها در محیط زیست، دوام کم آنها نسبت به عوامل ضد عفونی کننده‌ی آلی و کمترین اثرات زیان‌بار روی انسان، اشاره کرد (Li *et al*., 2009). مزیت ذرات اکسید روی در ابعاد نانو در مقایسه با سایر نانوذرات، کمتر بودن هزینه سنتز و داشتن خواص ضد اشعه ماوراء بنفش می باشند (Dastjerdi and Montazer, 2010). علاوه بر این، برخی مطالعات سمیت بالای نانوذرات اکسید روی را علیه باکتری‌ها و حداقل اثر را بر روی سلول‌های انسانی نشان داده‌اند . این امر سبب می‌شود که چشم اندازهای جدیدی از کاربرد نانوذرات در کشاورزی باز شود (Brayner *et al*, 2006; Zhang *et al*., 2007). بررسی‌های متعددی نشان داده‌اند که نانوذرات اکسید روی را می‌توان به عنوان قارچ‌کش مؤثر علیه چندین بیمارگر گیاهی مانند *Botrytis cinera* و *Penicillium expansum* استفاده کرد (Liu *et al*., 2011). در کنار ویژگی‌های قارچ‌کشی نانوذرات اکسید روی، این ذرات با قارچ *Beauveria bassiana* به عنوان قارچ بیمارگر حشرات، از نظر زیستی سازگاری خوبی دارد، زمانی که این نانوذرات در ترکیب با

فرمولاسیون کنیدی‌های این قارچ به کار می‌روند، روی سطح کنیدی‌ها جذب می‌شوند و یک لایه-ی پوششی را جهت حفاظت کنیدی‌ها در برابر صدمات اشعه ماوراء بنفش ایجاد کرده و در نتیجه افزایش طول عمر کنیدی‌ها را به همراه دارد (Pei Rong *et al*., 2010). نانوذرات اکسید روی علاوه بر کارکرد فوق، به تنهایی می‌تواند به عنوان یک آفتکش در کنترل حشرات آفت مانند برخی از جوربالان، دوبالان و لارو پروانه‌ها ایفای نقش کند (Goswami *et al*., 2010).

طبق بررسی‌های انجام شده می‌توان بیان کرد که فناوری نانو در کشاورزی از جمله در زمینه مدیریت آفات، انقلابی به راه خواهد انداخت. به عبارتی می‌توان پیش‌بینی کرد که در دو دهه آینده، انقلاب سبز توسط ابزارهای فناوری نانو به سرعت پیشرفت خواهد کرد (Bhattacharyya *et al*., 2004).

در این تحقیق تاثیر قارچ *Beauveria bassiana* (Hypocerales: Claviciptiaceae) و نانوذرات اکسید روی (ZnO) علیه سفید بالک گلخانه (*Trialeurodes vaporariorum*) مورد آزمایش قرار گرفت. سوالات اصلی تحقیق عبارتند از:

۱- آیا قارچ *B. bassiana* قادر به کنترل حشرات کامل سفید بالک گلخانه می باشد؟

۲- آیا نانوذرات اکسید روی بر حشرات کامل سفید بالک گلخانه اثر کشندگی دارند؟

طبق سوالات تحقیق، اهداف این مطالعه عبارتند از:

۱- تعیین میزان بیمارگری *B. bassiana* در کنترل سفید بالک گلخانه *T. vaporariorum*

۲- بررسی اثر کشندگی نانوذرات اکسید روی در کنترل سفید بالک گلخانه *T. vaporariorum*

با در نظر گرفتن تنوع میزبانی بالای قارچ‌های بیمارگر حشرات از جمله *B. bassiana* و نیز ویژگی‌های مفید نانوذرات اکسید روی، امید است که بتوان از پتانسیل این عوامل به منظور تهیه

ترکیبات آفتکش جدید و کم خطر برای انسان و محیط زیست جهت حفاظت از گیاه در برابر حشرات آفت مانند سفید بالک‌ها استفاده کرد.

# فصل دوم

# مروری بر مطالعات انجام شده

**۱-۲- شکل شناسی و زیست شناسی سفید بالک گلخانه**

چرخه زندگی سفید بالک گلخانه *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae) شامل ۶ مرحله از جمله مرحله تخم، ۴ مرحله پورگی و حشره کامل است (Gill, 1990; Yan *et al*., 2011). تخم‌ها بیضی شکل و تقریبا ۲/۸۶ میلیمتر هستند که ابتدا به رنگ سبز متمایل به زرد بوده و سپس به رنگ تیره در می‌آیند. افراد ماده تخم‌های خود را در سطح زیرین برگ‌ها و در دسته های دایره‌ای شکل قرار می‌دهند. حشرات ماده برای تخمگذاری ابتدا در سطح زیرین برگ محل مناسبی را انتخاب کرده وسپس توسط خرطوم خود در محل مزبور حفره‌ای ایجاد کرده و پس از تغذیه، تخم‌ها را در داخل آن قرار می‌دهند (Van Lenteren and Noldus, 1990). مرحله جنینی در شرایط عادی گلخانه در ۱ تا ۲ هفته به اتمام می‌رسد که طول این مرحله بسته به دمای محیط متغیر است.این آفت دارای ۴ مرحله پورگی است. (مدرس اول، ۱۳۷۲). پوره‌های تازه از تخم در آمده (پوره سن ۱) به رنگ سبز روشن بوده و دارای بدنی پهن همراه با پاها و شاخک‌های رشد یافته‌اند (Osborn and Landa, 1992). پوره‌های سن ۱ چند روزی در سطح زیرین برگ‌ها به گشت می‌پردازند و سپس توسط استایلت‌های خود به محلی در سطح زیرین برگ ثابت شده و تا زمان بالغ شدن در همان محل به زندگی ثابت خود ادامه می‌دهند (مدرس اول،۱۳۷۲). پاها و شاخک‌ها از مرحله دوم پورگی به بعد تحلیل می‌روند و سایر مراحل پورگی غیر متحرک هستند (Osborn and Landa, 1992). پوره‌های سن ۲ و ۳ روی سطح برگ، به صورت پهن و شفاف دیده می‌شوند و فقط از نظر اندازه با یکدیگر متفاوت هستند. پوره سن دوم ۰/۳ تا ۰/۶ میلیمتر طول دارد در حالی که پوره‌های سن سوم ۰/۵ میلیمتر طول دارند (Hulspas-Jordaan and Van Lenteren, 1989; Malais and Ravensberg, 2004). فرایند رشد