

تأثیر عصاره اکدیستروئیدی سرخس شترمرغی روی *Matteuccia struthiopteris* (Onocleaceae) و *Plutella xylostella* (Lepidoptera:Plutellidae) پارامترهای دموگرافی شب پره پشتالماسی

فاطمه قابو بردبار^۱ و سعید محرومی پور^{۲*}

۱ و ۲. کارشناس ارشد و دانشیار، گروه حشره‌شناسی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۷/۲۸ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۹/۱۱)

چکیده

امروزه بررسی‌ها برای استفاده از عصاره‌های گیاهی مانند اکدیستروئیدهای گیاهی، به دلیل توانایی بالا در کنترل آفات در حال افزایش است. گزارش‌هایی از وجود ترکیبات اکدیستروئیدی در برخی گونه‌های سرخس وجود دارد، اما تاکنون گزارشی از اثر چنین ترکیباتی در سرخس شترمرغی در دست نیست. در این پژوهش، اثر غلظت‌های زیرکشنده عصاره مтанولی گیاه سرخس شترمرغی (*Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera:Plutellidae)) روی شب پره پشتالماسی (بید کلم) (*Matteuccia struthiopteris* (L.) (Onocleaceae)) بررسی شد. لاروهای سن سوم شب پره پشتالماسی به مدت دو روز از غذای تیمارشده با عصاره مтанولی تغذیه کردند. سپس روی برگ‌های تیمارشده پرورش داده شدند تا حشرات کامل خارج شدند. از تخم‌های حاصل از جفت‌گیری حشرات کامل برای انجام آزمایش‌های دموگرافی استفاده شد. آزمایش‌ها در شرایط دمایی 27 ± 1 درجه سلسیوس و رطوبت 65 ± 5 درصد و شرایط نوری $8:16$ (روشنایی و تاریکی) بررسی شد. لاروهای خارج شده از تخم در نسل جدید روی برگ‌های تیمارشده پرورش یافته‌ند. نتایج نشان داد که نرخ خالص تولید مثل (R₀)، نرخ ذاتی افزایش جمعیت (r_m)، نرخ متناهی افزایش جمعیت (λ) با افزایش عصاره کاهش یافت. بیشترین نرخ ذاتی افزایش جمعیت و نرخ متناهی جمعیت به ترتیب 0.19 ± 0.002 (روز) و 1.21 ± 0.06 (روز) در غلظت $69/40$ درصد بود. پژوهش حاضر نشان داد که با افزایش غلظت عصاره، مدت زمان یک نسل (T) و مدت زمان دو برابر شدن جمعیت (DT) افزایش یافته است. با توجه به نتایج فوق، عصاره مтанولی سرخس شترمرغی به عنوان یک ترکیب کم خطر توانایی زیادی در کنترل شب پره پشتالماسی دارد و می‌توان از عصاره مтанولی سرخس شترمرغی به عنوان ترکیب مؤثر در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: اکدیستروئیدهای گیاهی، سرخس شترمرغی، شب پره پشتالماسی، دموگرافی.

Blackford *et al.*, 1996; Blackford & Dinan, 1997). حشرات گیاه‌خوار پس از تغذیه از گیاهان دارای این ترکیبات دچار مشکلاتی از جمله کاهش وزن و اختلال در پوست‌اندازی می‌گردند و در نهایت ممکن است این جریان سبب مرگ آنها شود (Dinan, 2001).

مقدمه

اکدیستروئیدهای گیاهی^۱ در بافت‌ها و اندام‌های تعدادی از خانواده‌های گیاهی وجود دارند (Dinan, 2001; Malausa *et al.*, 2006; Rharrabe *et al.*, 2010) و ساختاری مشابه هورمون پوست‌اندازی حشرات دارند

1. Phytoecdysteroids

E-mail: moharami@modares.ac.ir

* تلفن: ۰۹۱۲۲۰۳۵۶۵۳

Plutella xylostella (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) بررسی شد.

شب‌پرۀ پشت‌الماسی آفت عمده محصولات خانواده چلیپائیان و چندین محصول گلخانه‌ای است. برای کنترل جمعیت این آفت در سرتاسر جهان از حشره‌کش‌های شیمیایی استفاده می‌شود. استفاده از این ترکیبات در سطح وسیع سبب بروز مقاومت در حشره و طغیان مجدد آن، از بین رفتن دشمنان طبیعی و موجودات غیرهدف شده است (Yin *et al.*, 2008). تاکنون گزارشی مبنی بر سمیت گوارشی عصاره‌های گیاهی حاوی ترکیبات اکدیستروئیدی از جمله سرخسیان روی شب‌پرۀ پشت‌الماسی ثبت نشده است. اما در منابع و پایگاه‌های اطلاعاتی در دسترس، اطلاعات فراوانی درباره تأثیر حشره‌کش‌های شیمیایی بر پارامترهای دموگرافیک شب‌پرۀ پشت‌الماسی وجود دارد. مطالعات متعدد نشان می‌دهد که استفاده از دزهای زیرکشنده حشره‌کش‌ها می‌تواند بر پارامترهای دموگرافی از جمله طول دوره لاروی، شفیرگی و حشره کامل (Yin *et al.*, 2008)، طول عمر حشرات کامل (Sayyed *et al.*, 2008)، طوری و بارآوری (Eziah *et al.*, 2008)، زمان دو برابر شدن جمعیت (Mahmoudvand *et al.*, 2011)، زمان دو برابر شدن جمعیت (DT)، زمان یک نسل (T) و مدت زمان تأثیر بگذارد.

در راستای تحقق پخشیدن به اهدافی مانند کاهش مصرف سموم شیمیایی، حفظ سلامتی انسان و محیط زیست و هم‌گام با پژوهش‌های جهانی به منظور تولید ترکیبات آفت‌کش با منشا گیاهی، این پژوهش روی عصاره سرخس شترمرغی انجام گرفت. با توجه به ترکیبات مؤثر موجود در خانواده سرخسیان و همچنین جدید بودن بررسی اثر حشره‌کشی عصاره آن، یکی از اهداف اصلی این پژوهش تأثیر عصاره متابولی سرخس شترمرغی بر پارامترهای دموگرافی شب‌پرۀ پشت‌الماسی بود. سرخسیان از جمله گیاهانی اند که وجود ترکیبات مختلف اکدیستروئیدی از جمله 20-Hydroxyecdysone HPLC در آنها گزارش شده است. با استفاده از دستگاه

این ترکیبات در غلظت‌های زیرکشنده، بازدارنده تغذیه و دورکننده حشرات‌اند (Lafont, 1997). اکدیستروئیدهای گیاهی پتانسیل بالایی برای حفاظت از محصولات کشاورزی در برابر حشرات آفت دارند و قادر به حفاظت از مراحل مختلف رشدی گیاه در برابر حمله حشرات‌اند. این ترکیبات به علت دارا بودن خاصیت حشره‌کشی و همچنین توانمندی ایجاد تغییر در مسیر رشد طبیعی آفات توانسته‌اند به عنوان منابع منابع جدید کنترل کننده آفات Schmelzet *et al.*, 1999; Zolotaret *et al.*, 2001; Marion-poll & Descoins, 2002). همچنین، به دلیل مشابه بودن ترکیبات اکدیستروئیدی با هورمون‌های حشرات، احتمال بروز مقاومت آفات به این نوع ترکیبات کاهش می‌یابد (Dinan& Sehnal, 1995; Salma & Lafont, 1995) بیش از ۳۰۰ نوع اکدیستروئید گیاهی وجود دارد که تقریباً در تمام قسمت‌های گیاه از قبیل ساقه، ریشه، برگ، گل و بذر پراکنده شده است (Dinan, 1992). از مهم‌ترین و رایج‌ترین اکدیستروئیدهای گیاهی می‌توان به makisterone A و Polypodin-B Hydroxyecdysone Blackford *et al.*, 1996; Marion-poll & Descoins, 2002 اشاره کرد (Descoins, 2002). اعتقاد بر این است که سرخسیان از جمله گیاهانی‌اند که مقادیر زیادی از ترکیبات اکدیستروئیدی دارند. از عصاره استخراج شده از برگ و ریزوم سرخس‌ها چندین ترکیب فعلی اکدیستروئیدی از جمله Polypodine-B 20-hydroxyecdysone شده است (Kubo *et al.*, 1983; Zolotar *et al.*, 2001). *Matteuccia struthiopteris* (L.) (Onocleaceae) گیاهی بومی است که در نواحی شمالی ایران و در محله‌ای از جمله سراشیبی صخره‌ها و رودخانه‌ها به طور طبیعی رشد می‌کند. در این پژوهش، از عصاره متابولی سرخس شترمرغی^۱ استفاده شد. تاکنون در ایران و دنیا در زمینه خاصیت حشره‌کشی این گیاه روی جمعیت آفات پژوهشی صورت نگرفته است. با توجه به ترکیبات مؤثر موجود در خانواده سرخسیان و همچنین جدید بودن اثر حشره‌کشی عصاره سرخس شترمرغی^۲ تأثیر عصاره این گیاه بر جمعیت شب‌پرۀ پشت‌الماسی^۲

1. Ostrich fern
2. Diamond back moth

دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران واقع در محمدشهر کرج جمع‌آوری و پس از شناسایی و تأیید متخصصان حشره‌شناسی به آزمایشگاه منتقل گردید و از حشرات کامل حاصل برای ایجاد جمعیت آزمایشگاهی استفاده شد. از یک قفس پرورش پلاستیکی (قفس تخم‌بریزی) به ابعاد $35 \times 35 \times 35$ سانتی‌متر برای تولید انبوه تخم استفاده شد و در جداره قفس، توری تعییه شده بود. به منظور تهیه یک توده هم‌سن تخم، ۲۰۰-۱۵۰ جفت حشرات کامل نر و ماده داخل قفس تخم‌بریزی رهاسازی شد. پس از ۵-۱۰ ساعت برگ‌ها از داخل قفس برداشته شد و تخم‌های گذاشته شده برای انجام آزمایش‌ها بررسی شد. این تخم‌ها از حشراتی بودند که دست کم سه نسل در آزمایشگاه پرورش یافته بودند.

آزمایش زیست‌سنجدی

طی آزمایش مقدماتی، غلظت‌های مؤثر عصاره متنالوی برای مرگ‌ومیر ۲۰ تا ۸۰ درصد جمعیت تحت آزمایش به دست آمد و سپس آزمایش اصلی انجام گرفت. آزمایش‌های زیست‌سنجدی به روش فرو بردن برگ در محلول عصاره روی لارو سن سوم شب‌پرۀ پشت‌الماسی انجام گرفت (Tabashnik & Slansky, 1987). هر برگ گیاه کلزا به عنوان سطح تغذیه حشرات به مدت ۳۰ ثانیه در ۵ میلی‌لیتر محلول غوطه‌ور و سپس ۲۰ دقیقه زیر هود گذاشته شد تا حلal تبخر شود. لاروهای سن سوم شب‌پرۀ پشت‌الماسی به مدت دو روز از غذای تیمارشده با عصاره متنالوی برگ سرخس شترمرغی تغذیه کردند. سپس روی برگ‌های سالم تیمارشده پرورش داده شدند. شفیره‌های تشکیل شده به صورت جداگانه به پتریدیش‌هایی به قطر ۸ سانتی‌متری منتقل شد. آزمایش تا خروج حشره کامل ادامه داشت. آزمایش در ۶ غلظت (۲، ۴، ۶، ۹ و ۱۳ درصد (وزن به حجم) و در ۴ تکرار و در شرایط دمایی 27 ± 1 درجه سلسیوس و رطوبت 65 ± 5 درصد و شرایط نوری ۸:۱۶ (روشنایی و تاریکی) بررسی شد. پروبیت مرگ‌ومیر حشرات کاملی که در مرحله لارو سن سوم به مدت ۴۸ ساعت از غذای حاوی عصاره تغذیه کرده بودند، با استفاده از نرم‌افزار SAS 6.12 و به روش Finney (1971) محاسبه شد و مقادیر LC_{25} و LC_{50} به دست آمد.

وجود هورمون فوق در عصاره متنالوی سرخس شترمرغی تعیین شد (اطلاعات منتشرنشده). بنابراین تصمیم گرفته شد با انجام آزمایش‌های تکمیلی در مقیاس آزمایشگاهی، تأثیر غلظت‌های زیرکشنده عصاره متنالوی حاوی ترکیبات اکدیستروئیدی بر پارامترهای دموگرافی شب‌پرۀ پشت‌الماسی بررسی شود. نتایج می‌تواند به طراحی استراتژی‌های مناسب در کنترل تلفیقی شب‌پرۀ پشت‌الماسی کمک شایانی کند.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری گیاه

در اردیبهشت‌ماه ۱۳۸۹ گیاه سرخس شترمرغی (L.) *Matteuccia struthiopteris* از شهرستان مرزن‌آباد با کمک متخصص گیاه‌شناسی (آقای دکتر مظفریان) در مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراعت کشور جمع‌آوری گردید و پس از انتقال به آزمایشگاه در پاکت‌های کاغذی و در فریزر (دما ۲۴-۲۶ درجه سلسیوس) نگهداری شد.

استخراج عصاره

برای تهیه عصاره متنالوی، به ۵۰ گرم از برگ‌های خردشده سرخس 250 میلی‌لیتر متنالوی 70 درصد اضافه شد. سپس به مدت ۳ ساعت در دمای 55 درجه سلسیوس در حمام اولتراسونیک قرار گرفت. عصاره سردشده در شیشه نگهداری شد. به مواد باقی مانده در دریوش‌دار و در یخچال نگهداری شد. به مواد باقی مانده در لوله دو بار دیگر 250 میلی‌لیتر متنالوی 70 درصد اضافه شد و هر بار ۳ ساعت در دمای 55 درجه سلسیوس قرار گرفت. عصاره متنالوی حاصل به شیشه قبلی منتقل و در یخچال نگهداری شد. تغليظ عصاره متنالوی با دستگاه تقطیر در خلا (روتاری) انجام گرفت. عملیات تغليظ تا زمانی ادامه یافت که دیگر الكل از عصاره خارج نشد. از 50 گرم برگ خردشده سرخس، 4 میلی‌لیتر عصاره غلیظشده استخراج شد.

پرورش حشره

پرورش و ایجاد جمعیت آزمایشگاهی شب‌پرۀ پشت‌الماسی روی گیاه کلزا *Brassica napus* L. رقم Opera انجام گرفت. لارو و شفیره‌های شب‌پرۀ پشت‌الماسی از مزارع کلم مرکز پژوهش‌های باگبانی

هر غلظت ۱۰۰ لارو (تکرار) در نظر گرفته شد و مراحل مختلف رشدی لاروها به صورت روزانه تا پایان شفیرگی و تبدیل شدن به حشره کامل ثبت شد. آزمایش در شرایط دمایی 27 ± 1 درجه سلسیوس و رطوبت 65 ± 5 درصد و شرایط نوری $8:16$ (روشنایی و تاریکی) انجام گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها و محاسبه پارامترها (مانند نرخ ناخالص باروری، نرخ ذاتی افزایش جمعیت، مدت زمان یک نسل، نرخ متناهی افزایش جمعیت) بر اساس روش Carey (1993) و برای اینکه پارامترهای تحت محاسبه از لحاظ آماری تکراردار شوند، از روش آماری Jackknife با نرم‌افزار SAS 6.12 استفاده شد (Maia *et al.*, 2000).

نتایج

آزمایش زیست‌سنگی

در این پژوهش، غذای لاروهای سن سوم به مدت ۴۸ ساعت با غلظت‌های مختلف عصاره مтанولی سرخس شترمرغی تیمار شد. پس از آن لاروها تا تبدیل شدن به شفیره و ظهور حشرات کامل روی غذای سالم نگهداری شدند. لذا مقادیر LC₂₅ و LC₅₀ بر اساس میزان مرگ‌ومیر در حشرات کامل به ترتیب $2/34$ و $5/44$ درصد (وزن به حجم) بود (جدول ۱). همچنین عصاره مtanولی سرخس شترمرغی به دلیل خواص هورمونی در اندازه و شکل ظاهری حشرات کامل خارج شده تغییراتی ایجاد کرد (شکل ۱).

طول دوره رشدی در مراحل مختلف سنی شب‌پره پشت‌الماسی

طول مراحل مختلف رشدی شب‌پره پشت‌الماسی در جدول ۲ نشان داده شده است. بین غلظت‌های مختلف عصاره مtanولی سرخس شترمرغی در طول دوره رشد و تکامل F = 2.36; df = 3, 44; P < 0.0001 تفاوت معناداری مشاهده شد (). طول دوره رشد جنبینی شب‌پره پشت‌الماسی در غلظت‌های مختلف عصاره مtanولی سرخس شترمرغی بین ۲/۹۱ روز در غلظت ۰/۶۹ درصد تا ۳/۱۶ روز در غلظت ۲/۳۴ درصد متغیر بود. مرحله لاروی در غلظت‌های مختلف عصاره مtanولی سرخس شترمرغی دارای اختلاف معنادار بود (F = 6.97; df = 3, 44; P < 0.0001). با افزایش غلظت عصاره مtanولی سرخس شترمرغی، دوره

تعیین تأثیر غلظت‌های زیرکشنده روی پارامترهای دموگرافی

برای انجام آزمایش‌های دموگرافی شب‌پره پشت‌الماسی، غلظت‌های LC₅ (۰/۶۹ درصد)، LC₁₀ (۱/۰۹ درصد) و LC₂₅ (۲/۳۴ درصد) از عصاره مtanولی سرخس شترمرغی تهیه شد. هر برگ گیاه کلزا به عنوان سطح تغذیه حشرات به مدت ۳۰ ثانیه در ۵ میلی‌لیتر محلول غوطه‌ور و سپس ۲۰ دقیقه زیر هود گذاشته شد تا حلal تبخیر شود. برای شروع آزمایش از لاروهای سن سوم شب‌پره پشت‌الماسی استفاده شد. قبل از شروع آزمایش، لاروها به مدت دو ساعت گرسنه نگه داشته شدند. لاروها دو روز از برگ‌های تیمار شده با عصاره مtanولی تغذیه کردند و پس از این مدت، درصد تلفات دوره لاروی بررسی شد و لاروهای زنده‌مانده، از برگ‌های آلوده به برگ‌های سالم و غیرآلوده منتقل شدند و تا مرحله شفیره شدن میزان مرگ‌ومیر آنها بررسی شد. شفیره‌ها به پتریدیش منتقل شدند و تا زمان ظهور حشرات کامل میزان تلفات آنها محاسبه شد. در ادامه، آزمایش‌ها روی حشراتی دنبال شد که در نسل قبلی خود در مرحله لارو سن سوم به مدت ۴۸ ساعت از غلظت‌های مختلف عصاره تغذیه کرده بودند. برای انجام آزمایش‌های دموگرافیک، از ۱۲ جفت حشره کامل نر و ماده شب‌پره پشت‌الماسی که روی غلظت‌های مختلف عصاره مtanولی پرورش یافته بودند، استفاده شد. هر جفت از این حشره‌ها به داخل ظروف جفت‌گیری منتقل شدند. ظروف جفت‌گیری هر ۲۴ ساعت بازدید شدند و هر روز یک برگ تازه درون ظرف‌ها قرار گرفت. آزمایش تا مرگ آخرین شب‌پره ادامه یافت. از اولین روز تا پایان عمر ماده‌ها تعداد تخمهای گذاشته شده هر یک از حشرات تا آخرین روز ثبت شد. همچنین طول دوره پیش از تخم‌ریزی، تخم‌ریزی و پس از تخم‌ریزی حشرات بالغ در این مرحله برای همه حشرات بالغ محاسبه شد. لاروهای تازه خارج شده از تخم در نسل جدید به طور جداگانه روی برگ‌های تیمار شده پرورش یافتند. آزمایش روزانه بررسی شد و برگ‌های تغذیه شده توسط لاروها در صورت لزوم، هر یک الی دو روز با برگ تازه تقویض شدند. از پوسته لاروی به جا مانده و رنگ کپسول سر برای تشخیص سنین مختلف لاروی استفاده شد. برای

طولانی‌ترین دوره شفیرگی در غلظت ۲/۳۴ درصد، $5/41 \pm 0/14$ روز تعیین شد. این مقدار در شاهد $4/16 \pm 0/14$ روز بود. طول دوره شفیرگی در غلظت ۰/۶۹ درصد و $1/0/9$ درصد اختلاف معناداری مشاهده نشد.

لاروی طولانی‌تر شد و در غلظت ۲/۳۴ درصد به $6/75 \pm 0/16$ روز افزایش یافت. دوره شفیرگی شبپرۀ پشت‌الماسی تحت تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره متابولی سرخس متفاوت بود ($F=17.71$; $df = 3, 44$; $P < 0.0001$).

جدول ۱. مقادیر LC_{50} و LC_{25} محاسبه‌شده عصاره متابولی سرخس شترمرغی روی لاروهای سن سوم شبپرۀ پشت‌الماسی تغذیه کرده از عصاره

LC_{50} (%w/v) (حدود اطمینان ۰/۹۵)	LC_{25} (%w/v) (حدود اطمینان ۰/۹۵)	Slope \pm SE	Intercept \pm SE	P-value	χ^2 (df)	تعداد
۵/۴۴ (۴/۳۹-۶/۸۴)	۲/۳۴ (۱/۴۶-۳/۰۶)	$1/84 \pm 0/31$	$2/65 \pm 0/24$	>0.82	۱/۵۳ (۴)	۲۴۰



شکل ۱. حشرات کامل شبپرۀ پشت‌الماسی.

الف) شاهد؛ ب) حشرات کامل خارج شده توسط لاروهای سن سوم شبپرۀ پشت‌الماسی از عصاره ۱۳ درصد سرخس شترمرغی

جدول ۲. میانگین طول دوره رشدی (\pm خطای معیار)، مراحل مختلف سنی شبپرۀ پشت‌الماسی در غلظت‌های مختلف عصاره سرخس شترمرغی زمانی که لارو سن سوم در نسل قبل به مدت ۴۸ ساعت از عصاره تغذیه نمود

غلظت (درصد)					مراحل رشدی
۲/۳۴	۱/۰۹	۰/۶۹	شاهد	رشد جینی (روز)	
$2/16 \pm 0/12^a$	$3/0/8 \pm 0/0/8^{ab}$	$2/91 \pm 0/0/8^{ab}$	$2/87 \pm 0/11^b$	لارو (روز)	
$6/75 \pm 0/16^a$	$6/58 \pm 0/19^{ab}$	$6/25 \pm 0/13^{bc}$	$5/91 \pm 0/0/8^c$	شفیره (روز)	
$5/41 \pm 0/14^a$	$5/00 \pm 0/17^b$	$4/25 \pm 0/13^c$	$4/16 \pm 0/11^c$	مجموع (روز)	
$15/33 \pm 0/14^a$	$14/66 \pm 0/18^b$	$13/41 \pm 0/19^c$	$12/91 \pm 0/22^c$	میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ردیف بر اساس آزمون توکی در سطح ۵ درصد اختلاف معناداری دارند.	

سرخس شترمرغی اختلاف معناداری مشاهده شد (۰/۶۹ درصد و $1/0/9$ درصد). میانگین طولانی‌ترین و کوتاه‌ترین طول عمر حشرات ماده به ترتیب در غلظت ۲/۳۴ درصد و $0/69$ درصد به دست آمد. همچنین بین طول عمر حشرات نر شبپرۀ پشت‌الماسی اختلاف معناداری مشاهده شد ($F=14.34$; $df = 3, 44$; $P < 0.0001$). این نتایج تقریباً

مقادیر مربوط به طول عمر حشرات کامل نر و ماده و همچنین دوره رشد و نمو مراحل پس از بلوغ شبپرۀ پشت‌الماسی تحت تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره متابولی سرخس شترمرغی در جدول ۳ نشان داده شده است. بر اساس نتایج آزمایش، بین میانگین طول عمر حشرات ماده شبپرۀ پشت‌الماسی در غلظت‌های مختلف عصاره متابولی

معناداری طولانی‌تر از غلظت ۰/۶۹ درصد بود. طول دوره تخم‌ریزی در غلظت‌های مختلف عصارة مтанولی سرخس شترمرغی دارای اختلاف معنادار بود ($F=45.65$; $df=3$, $P<0.0001$). بخش عمده تخم‌ریزی در اوایل زندگی حشرات کامل صورت گرفت. طول دوره تخم‌ریزی در غلظت ۲/۳۴ درصد پایین بود، اما در غلظت ۰/۶۹ درصد به حداقل مقدار خود رسیده است. همچنین بین دو غلظت ۱/۰۹ درصد و ۲/۳۴ درصد اختلاف معناداری در طول دوره تخم‌ریزی مشاهده نشد. تغییرات و روند مشابهی برای دوره بعد از تخم‌ریزی مشاهده شد. طول دوره بعد از تخم‌ریزی در غلظت‌های مختلف عصارة مтанولی سرخس شترمرغی اختلاف معناداری نشان نداد.

مشابه نتایج مربوط به طول عمر حشرات ماده بود. به نحوی که طولانی‌ترین طول عمر در غلظت ۲/۳۴ درصد با میانگین ۰/۱۳ \pm ۰/۰۲ روز و کوتاه‌ترین طول عمر در غلظت ۰/۶۹ درصد با میانگین ۰/۱۲ \pm ۰/۰۷ روز تعیین شد. در همه غلظت‌های تحت مطالعه، حشرات کامل شبپره پشت‌الماسی بعد از خارج شدن از مرحله شفیرگی شروع به جفت‌گیری و تخم‌ریزی می‌کنند. همان‌گونه که در جدول ۳ دیده می‌شود، طول دوره قبل از تخم‌ریزی در غلظت‌های مختلف عصارة مтанولی سرخس شترمرغی اختلاف معناداری داشت ($F=11.31$; $df=3$, $P<0.0001$). در اکثر غلظت‌ها طول دوره قبل از تخم‌ریزی بسیار کوتاه بود. این دوره در دو غلظت ۱/۰۹ درصد و ۲/۳۴ درصد به طور

جدول ۳. میانگین‌های دوره رشد و نمو مراحل پس از بلوغ (± خطای معیار) شبپره پشت‌الماسی در غلظت‌های مختلف عصارة سرخس شترمرغی زمانی که لاروسن سوم در نسل قبل به مدت ۴۸ ساعت از عصارة تعذیه نمود

غلظت (درصد)				مراحل رشدی
۲/۳۴	۱/۰۹	۰/۶۹	شاهد	
۸/۰۲ \pm ۰/۱۳ ^a	۷/۷۵ \pm ۰/۱۵ ^{ab}	۷/۲۲ \pm ۰/۱۲ ^{ab}	۶/۸۵ \pm ۰/۱۶ ^b	طول عمر حشرات نر (روز)
۹/۲۰ \pm ۰/۲۱ ^a	۸/۸۴ \pm ۰/۱۸ ^{ab}	۸/۷۶ \pm ۰/۱۵ ^{ab}	۸/۲۵ \pm ۰/۱۲ ^b	طول عمر حشرات ماده (روز)
۱/۵۸ \pm ۰/۱۹ ^a	۱/۴۱ \pm ۰/۱۶ ^a	۰/۶۶ \pm ۰/۱۴ ^b	۰/۵۰ \pm ۰/۱۵ ^b	دوره قبل از تخم‌ریزی (روز)
۳/۱۶ \pm ۰/۲۴ ^c	۳/۵۰ \pm ۰/۱۵ ^c	۴/۶۶ \pm ۰/۱۸ ^b	۵/۸۳ \pm ۰/۱۱ ^a	دوره تخم‌ریزی (روز)
۶/۰۰ \pm ۰/۴۹ ^a	۶/۴۱ \pm ۰/۰۵ ^a	۵/۵۰ \pm ۰/۴۸ ^a	۲/۸۲ \pm ۰/۲۹ ^b	دوره بعد از تخم‌ریزی (روز)

میانگین‌های با حروف غیرمشابه در هر ردیف بر اساس آزمون توکی در سطح ۵ درصد اختلاف معناداری دارند.

۳/۷۶ \pm ۰/۳۹ تعیین شد. بین نرخ خالص باروری این شبپره در غلظت‌های مختلف عصارة مтанولی سرخس شترمرغی اختلاف معناداری مشاهده شد ($F=1.26$; $df=3$, $P<0.0001$). بین میزان نرخ خالص بارآوری شبپره پشت‌الماسی در غلظت‌های مختلف عصارة مтанولی سرخس شترمرغی وجود داشت ($F=771.04$; $df=3$, 44 ; $P<0.0001$). کمترین و بیشترین نرخ خالص بارآوری بهترتب در غلظت ۲/۳۴ درصد و ۱/۰۹ درصد تعیین شد. طبق بررسی‌های انجام گرفته بین میزان تخم‌ریزی به ازای هر فرد ماده در غلظت‌های مختلف عصارة مтанولی سرخس شترمرغی اختلاف معناداری مشاهده شد ($F=140.36$; $df=3$, 44 ; $P<0.0001$). بیشترین میزان تخم‌ریزی به ازای هر فرد ماده در طول عمر در غلظت ۰/۶۹ درصد مشاهده شد. غلظت عصارة مтанولی سرخس شترمرغی یکی از عوامل مهم در تخم‌ریزی است و افزایش غلظت عصارة مtanولی سبب کاهش تخم‌ریزی شد.

پارامترهای تولیدمثلی شبپره پشت‌الماسی نرخ ناخالص و خالص باروری شبپره پشت‌الماسی تحت تأثیر غلظت‌های مختلف تحت آزمون قرار گرفت (جدول ۴). غلظت دارای تأثیر معنادار روی نرخ ناخالص باروری شبپره پشت‌الماسی بود ($F = 137.46$; $df = 3$, 44 ; $P<0.0001$). بیشترین نرخ ناخالص باروری در غلظت ۰/۶۹ درصد بود. بین میزان نرخ ناخالص باروری در دو غلظت ۱/۰۹ درصد و ۲/۳۴ اختلاف معناداری مشاهده نشد. نرخ خالص باروری عبارت است از متوجه تعداد تخم‌های یک حشره ماده در طول عمر با در نظر گرفتن احتمال بقای آن فرد و نرخ خالص بارآوری عبارت از متوجه تعداد تخم‌های تفریخ شده از مجموع تخم‌های تولیدشده یک فرد با در نظر گرفتن احتمال بقای آن فرد در طول عمر است. نرخ خالص باروری شبپره پشت‌الماسی در غلظت‌های ۰/۶۹ درصد، ۱/۰۹ درصد و ۲/۳۴ درصد بهترتب ۰/۸۵ \pm ۰/۸۴، ۲۴/۳۸ \pm ۱/۰۸ و ۵/۸۵ \pm ۰/۰۵ و

جدول ۴. میانگین پارامترهای تولیدممثل (\pm خطای معیار) شب پرۀ پشتالماسی در غلظت‌های مختلف عصاره مтанولی سرخس شترمرغی زمانی که لارو سن سوم در نسل قبل به مدت ۴۸ ساعت از عصاره تغذیه نمود

غلظت (درصد)					پارامتر
۲/۳۴	۱/۰۹	۰/۶۹	شاهد		
۱۶/۱۳ \pm ۱/۱۷ ^c	۲۱/۶۷ \pm ۱/۱۳ ^c	۶۰/۹۶ \pm ۲/۷۱ ^b	۷۱/۱۷ \pm ۱/۱۷ ^a	نرخ ناخالص باروری ^۱ (تخم)	
۱۴/۸۳ \pm ۱/۵۷ ^c	۲۰/۸۰ \pm ۱/۰۱ ^c	۵۹/۱۳ \pm ۲/۶۳ ^b	۶۹/۷۴ \pm ۱/۴۳ ^a	نرخ ناخالص بارآوری ^۲ (تخم)	
۳/۷۶ \pm ۰/۳۹ ^c	۵/۸۵ \pm ۰/۸۴ ^c	۲۴/۳۸ \pm ۱/۰۸ ^b	۵۸/۹۷ \pm ۰/۱۱ ^a	نرخ خالص باروری ^۳ (تخم)	
۳/۴۶ \pm ۰/۳۶ ^c	۵/۶۱ \pm ۰/۸۱ ^c	۲۳/۶۵ \pm ۱/۰۵ ^b	۵۸/۱۲ \pm ۱/۱۹ ^a	نرخ خالص بارآوری ^۴ (تخم)	
۳/۲۱ \pm ۰/۲۵ ^d	۶/۳۵ \pm ۰/۳۵ ^c	۱۰/۰۷ \pm ۱/۳۶ ^b	۱۱/۶۱ \pm ۱/۲۸ ^a	میانگین تخم در روز ^۵ (تخم/فرد)	

میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ردیف بر اساس آزمون توکی در سطح ۵ درصد اختلاف معنادار دارند.

1. Gross fecundity rate, 2. Gross fertility rate, 3. Net fecundity rate, 4. Net fertility rate, 5. Mean eggs per day

جمعیت پایدار هر روز نسبت به روز قبل افزایش خواهد یافت. نرخ متناهی افزایش جمعیت به طور معناداری تحت تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره مтанولی سرخس شترمرغی قرار گرفت ($F=672.38$; $df = 3, 44$; $P<0.0001$). مقدار این پارامتر در نمونه‌های تیمارشده در مقایسه با شاهد کاهش یافت. از نظر نرخ متناهی افزایش جمعیت (λ) شب پرۀ پشتالماسی در غلظت ۰/۶۹ درصد هر روز نسبت به روز قبل ۱/۲۱ برابر شد. میانگین زمان نسل در شب پرۀ پشتالماسی تحت تأثیر غلظت قرار گرفت ($F=8.49$; $df=2/34$; $P<0.0001$). افزایش غلظت از ۰/۶۹ درصد به ۰/۳۴ درصد سبب طولانی شدن زمان نسل در شب پرۀ پشتالماسی شد. زمان دو برابر شدن جمعیت شب پرۀ پشتالماسی با افزایش غلظت از ۰/۶۹ درصد به ۰/۳۴ درصد روند افزایشی نشان داد. حداقل و حداکثر زمان دو برابر شدن جمعیت به ترتیب در غلظت ۰/۶۹ درصد و غلظت ۰/۳۴ درصد مشاهده گردید. این نتیجه بیانگر این است که میزان افزایش جمعیت در غلظت ۰/۳۴ درصد کمتر بوده است. بنابراین زمان بیشتری برای دو برابر شدن جمعیت مورد نیاز است.

پارامتر رشد جمعیت شب پرۀ پشتالماسی پارامترهای رشد جمعیت شب پرۀ پشتالماسی در غلظت‌های مختلف عصاره مtanولی سرخس شترمرغی در جدول ۵ نشان داده شده است. بالاترین و پایین‌ترین مقدار نرخ خالص تولیدممثل (R_0) به ترتیب در غلظت‌های ۰/۶۹ درصد و ۲/۳۴ درصد برابر با $۱۹/۷۷\pm ۰/۸۱$ و $۱/۹۲\pm ۰/۲۰$ (ماده/ ماده/ نسل) به دست آمد. بنابراین طبق این یافته‌ها می‌توان نتیجه گرفت بین نرخ خالص تولیدممثل در غلظت‌های مختلف عصاره مtanولی سرخس شترمرغی اختلاف معناداری وجود دارد ($F=1.11$; $df = 3, 44$; $P<0.0001$). بیشترین مقدار تولیدممثل در شب پرۀ پشتالماسی در غلظت ۰/۶۹ درصد است. بین میزان نرخ ذاتی افزایش جمعیت شب پرۀ پشتالماسی در غلظت‌های مختلف عصاره مtanولی سرخس شترمرغی اختلاف معناداری مشاهده شد ($F=568.68$; $df=3, 44$; $P<0.0001$). تعداد ماده‌های اضافه شده به جمعیت شب پرۀ پشتالماسی در هر روز (r_m) در غلظت ۰/۳۴ درصد کمترین و در غلظت ۰/۶۹ درصد بیشترین بود. نرخ متناهی افزایش جمعیت شب پرۀ پشتالماسی نشانگر مقداری است که به آن میزان

جدول ۵. میانگین پارامترهای رشد جمعیت (\pm خطای معیار) شب پرۀ پشتالماسی در غلظت‌های مختلف عصاره مtanولی سرخس شترمرغی زمانی که لارو سن سوم در نسل قبل به مدت ۴۸ ساعت از عصاره تغذیه نمود

غلظت (درصد)					پارامتر
۲/۳۴	۱/۰۹	۰/۶۹	شاهد		
۱/۹۲ \pm ۰/۲۰ ^c	۳/۰۵ \pm ۰/۰۲ ^c	۱۹/۷۷ \pm ۰/۸۱ ^b	۵۰/۴۰ \pm ۱/۰۳ ^a	نرخ خالص تولیدممثل ^۱ (ماده/ ماده/ نسل)	
۰/۰۴ \pm ۰/۰۰۶ ^c	۰/۰۷ \pm ۰/۰۰۰ ^c	۰/۱۹ \pm ۰/۰۰۲ ^b	۰/۲۶ \pm ۰/۰۰۱ ^a	نرخ ذاتی افزایش جمعیت ^۲ (ماده/ ماده/ روز)	
۱/۰۴ \pm ۰/۰۷ ^c	۱/۰۷ \pm ۰/۰۵ ^c	۱/۲۱ \pm ۰/۰۶ ^b	۱/۳۰ \pm ۰/۰۲ ^a	نرخ متناهی افزایش جمعیت ^۳	
۱۵/۹۸ \pm ۰/۰۶ ^a	۱۵/۲۱ \pm ۰/۰۲ ^b	۱۴/۶۹ \pm ۰/۰۷ ^c	۱۴/۶۹ \pm ۰/۰۱ ^a	میانگین زمان نسل ^۴ (روز)	
۱۷/۰۴ \pm ۰/۲۶ ^a	۹/۱۳ \pm ۰/۰۶ ^b	۳/۵۳ \pm ۰/۰۲ ^c	۲/۵۹ \pm ۰/۰۱ ^a	مدت زمان دو برابر شدن ^۵ (روز)	

میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ردیف بر اساس آزمون توکی در سطح ۵ درصد اختلاف معنادار دارند.

1. R_0 : Net reproduction rate, 2. r_m : Intrinsic rate of increase, 3. λ : Finite rate of increase, 4. T : Mean generation time, 5. DT : Doubling time

بود. نکته مهمی که باید به آن اشاره کرد این است که از لحاظ باروری و بارآوری حشرات کامل بدشکل نسبت به حشرات کامل سالم در همان غلظت بسیار تفاوت وجود داشت. تخم‌ریزی در حشرات بدشکل ۴۸ ساعت پس از جفت‌گیری انجام گرفت و از طرفی نرخ تغییر تخم و خروج لارو سن اول بسیار پایین بود. این نتایج حساسیت لارو شب‌پرۀ پشت‌الماسی به عصاره مтанولی سرخس شترمرغی را نشان می‌دهد.

یکی از اهداف تحقیق حاضر بررسی تأثیر غلظت‌های زیرکشنده عصاره مтанولی بر پارامترهای دموگرافی شب‌پرۀ پشت‌الماسی است. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که افزایش غلظت عصاره مтанولی سبب طولانی‌تر شدن دوره لاروی و شفیرگی در شب‌پرۀ پشت‌الماسی می‌گردد. به نظر می‌رسد نامطلوب بودن مواد غذایی سبب کاهش وزن گردیده است. بنابراین به نظر می‌رسد حشرات به دلیل کوچک ماندن به وزن بحرانی مورد نیاز ترسیم‌هایند و همین عامل سبب طولانی شدن این دوره شده است. نتایج این پژوهش با یافته‌های Rharabe *et al.* (2010) که کوتاه شدن طول دوره رشدی شب‌پرۀ هندی *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) در اثر تغذیه از ترکیب اکدیستروئیدی 20-hydroxyecdysone مطابقت دارد. نتایج پژوهش فراوان دیگری در عصاره مtanولی سرخس تحت آزمایش، مانع از تأثیر قاطع ترکیبات اکدیستروئیدی بر طول دوره رشدی شب‌پرۀ پشت‌الماسی شده است. بنابراین موضوع فوق بسیار جالب است و به پژوهش‌های بیشتری برای بررسی ترکیبات موجود در عصاره فوق احتیاج دارد.

در ادامه آزمایش‌های این پژوهش، نتایج نشان می‌دهد که استفاده از غلظت‌های مختلف عصاره مtanولی سرخس شترمرغی، باروری و بارآوری شب‌پرۀ تحت آزمایش را بهشت کاهش داده است. این احتمال وجود دارد که استفاده از عصاره مtanولی سرخس شترمرغی در مرحله لاروی سبب ضعیف شدن حشرات کامل و اتمام ذخایر تخم گردیده و میزان تخم‌ریزی را بهشت کاهش داده است. Sota *et al.* (1998) و Fujiwara *et al.* (2002)، گزارش دادند که نرخ خالص باروری در لاروهای شب‌پرۀ پشت‌الماسی که با fenvalerate تیمار شده

بحث

تاکنون گزارشی مبنی بر سمیت گوارشی عصاره مtanولی سرخس شترمرغی روی آفات گزارش نشده است؛ ولی پژوهش‌های بسیاری درباره کاربرد عصاره و ترکیبات اکدیستروئیدی در رژیم غذایی برخی آفات وجود دارد. طی بررسی‌های محققان مشخص شد که وجود ترکیبات اکدیستروئیدی از جمله 20-hydroxyecdysone و Ponasteron-B Polypodin-B در رژیم غذایی حشرات سبب اختلال در روند مراحل رشدی لاروی و شفیرگی و Kubo *et al.*, 1983; (Blackford & Dinan, 1997; Rharabe *et al.*, 2009 نتایج مشابه در حشراتی مانند *Plodia interpunctella* Hubner (Lepidopter: Pyralidae) (Rharabe *et al.*, 2009 و Acrolepiopsis assectella Zeller (Arnault & Slama, 1986) که از برخی گیاهان، یا عصاره حاوی ترکیبات اکدیستروئیدی تغذیه کرده‌اند نیز مشاهده شده است. اثر ترکیبات Agroneem (Liang *et al.*, 2003) Liang *et al.* (2003) Neemix و Ecozin بررسی کردند. افزایش مدت زمان قرار گرفتن در معرض این ترکیبات، سبب کاهش تعداد شفیره و حشرات کامل شب‌پرۀ پشت‌الماسی شد. نتایج پژوهش حاضر با نتایج ذکر شده در سال ۲۰۰۳ مطابقت دارد. نتایج پژوهش فوق بیان می‌کند که در ۲۴ و ۴۸ ساعت اول تغذیه از عصاره مtanولی سرخس شترمرغی روی لاروهای سن سوم، اثر قابل ملاحظه‌ای از لحاظ شکل ظاهری و مرگ‌ومیر نداشته است. افزایش مدت زمان قرار گرفتن در برابر عصاره مtanولی سبب افزایش مرگ‌ومیر در جمعیت تحت آزمایش شد. در مرحله شفیرگی بیشترین تلفات مشاهده شد. شفیره‌هایی که در مرحله لارو سن سوم با غلظت‌های بالای عصاره مtanولی سرخس شترمرغی تیمار شده بودند، تفاوت‌های بسیار بارزی با نمونه‌های شاهد داشتند. شفیره‌ها نسبت به نمونه‌های شاهد از لحاظ اندازه کوچک‌تر بودند و به واسطه تغییر رنگ به‌آسانی از شفیره‌های شاهد قابل تشخیص بودند. تغییرات بارزی در شکل و اندازه حشرات خارج شده از لاروهایی که با غلظت بالا (۱۳ درصد) در عصاره مtanولی سرخس شترمرغی تیمار شده بودند، دیده شد. بدشکلی و کاهش اندازه در حشرات کامل خارج شده بسیار مشهود

زیادی روی آفات از جمله شب پره پشتالماسی ایجاد می کند و قادر است جمعیت را در نسل های بعد به طور شایان توجهی کاهش دهد. بنابراین لازم است با شناسایی ترکیبات مؤثر، انجام آزمایش های متعدد و همچنین با تهیه فرمولاسیون های مناسب در صورت اثبات کارایی، امکان استفاده از این ترکیب را در شرایط گلخانه ای و مزرعه ای فراهم آورد.

بودند، افزایش می یابد. نتایج پژوهش حاضر با گزارش های ذکرشده مطابقت ندارد. تفاوت در نتیجه ذکرشده ممکن است به دلیل تغییر در غذای به کار رفته در مرحله لاروی قابل توجیه باشد (Hamilton *et al.*, 2005).

از نتایج این پژوهش می توان چنین استنباط کرد که سرخس شترمرغی از جمله گیاهانی است که سمیت

REFERENCES

- Arnault, C. & Slama, K. (1986). Dietary effects of phytoecdysone in the leek-moth, *Acrolepiopsis assectella* Zell. (Lepidoptera: Acrolepiidae). *Journal of Chemical Ecology*, 12, 1979-1986.
- Blackford, M., Clarke, B. & Dinan, L. (1996). Tolerance of the Egyptian cotton leafworm *Spodoptera littoralis* to ingested phytoecdysteroids. *Journal of Insect Physiology*, 42, 931-936.
- Blackford, M. & Dinan, L. (1997). The effect of ingested ecdysteroid agonists (20-hydroxyecdysone, RH5849 and RH5992) and an ecdysteroid antagonist (Cucurbitacin B) on larval development of two polyphagous lepidopterans (*Acherontia atropos* and *Lacanobia oleracea*). *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 83, 263-276.
- Carey, J.R. (1993). Applied demography for biologists with special emphasis on insect. Oxford University Press, New York. 211 pp.
- Dinan, L. (1992). The analysis of phytoecdysteroids in single (pre flowering stage) specimens of fat hen, *Chenopodium album*. *Phytochemical Analysis*, 3 (3), 132-138.
- Dinan, L. (2001). Phytoecdysteroids: Biological aspect. *Phytochemistry*, 57, 325-339.
- Dinan, L. & Sehnal, F. (1995). A strategy for the identification of ecdysteroid receptor agonists and antagonists from plants. *European Journal of Entomology*, 92 (1), 271-283.
- Eziah, V. Y. , Rose, H. A., Clift, A. D. & Mansfield, S. (2008). Susceptibility of four field populations of the diamondback moth *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae) to six insecticides in the Sydney region, New South Wales. *Australian Journal of Entomology*, 47, 355-360.
- Finney, D. J. (1971). Probit Analysis, 3rd Edition. Cambridge University, London. 333 pp.
- Fujiwara, Y., Takahashi, T., Yoshioka, T. & Nakasuji, F. (2002). Changes in egg size of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) treated with fenvalerate at sublethal doses and viability of the eggs. *Applied Entomology and Zoology*, 37, 103-109.
- Haseeb, M., Kobori, Y., Amino, H. & Nemoto, H. (2002). Population density of *Plutella xylostella* and its parasitoid *Cotesia plutellae* on two varieties of cabbage in an urban environment. *Applied Entomology and Zoology*, 36, 353-360.
- Hamilton, A. J., Endersby, N. M., Ridland, P. M., Zhang, J. & Neal, M. (2005). Effects of cultivar on oviposition preference, larval feeding and development time of diamondback moth, *Plutella xylostella* on some *Brassica oleracea* vegetables in Victoria. *Australian Journal of Entomology*, 44, 284-287.
- Kubo, I., Klocke, J. A. & Asano, S. (1983). Effects of ingested phytoecdysteroids on the growth and development of two lepidopterous larvae. *Journal of Insect Physiology*, 29, 307-316.
- Lafont, R. (1997). Ecdysteroids and related molecules in animals and plants. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 35, 3-20.
- Liang, G., Chen, W. & Liu, T. (2003). Effects of three neem-based insecticides on diamondback moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: plutellidae). *Crop Protection*, 22, 333-340.
- Mahmoudvand, M., Abbasipour, H., Sheikhi Garjan, A. and Bandani, A. R. (2011). Sublethal effects of indoxacarb on the diamondback moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). *Applied Entomology and Zoology*, 46, 75-80.
- Malausa, T., Salles, M., Marquet, V., Guillemaud, T., Alla, S., Marion-Poll, F. & Lapchin, L. (2006). Within-species variability of the response to 20-hydroxyecdysone in peach-potato aphid (*Myzus persicae* Sulzer). *Journal of Insect Physiology*, 52 (5), 480-486.
- Marion-Poll, F. & Descoings, C. (2002). Taste detection of phytoecdysteroids in larvae of *Bombyx mori*, *Spodoptera littoralis* and *Ostrinia nubilalis*. *Journal of Insect Physiology*, 48, 467-476.
- Maia, A. D. H., Luiz, A. J. & Campanhola, C. (2000). Statistical inference on associated fertility life table parameters using jackknife technique: Computational aspects. *Journal of Economic Entomology*, 93, 511-518.
- Rharabe, K., Bouayad, N. & Sayah, F. (2009). Effects of ingested 20-hydroxyecdysone on development and midgut epithelial cells of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 93, 112-119.

21. Rharrabe, K., Sayeh, F. & Lafont, R. (2010). Dietary effect of four phytoecdysteroids on growth and development of the Indian meal moth, *Plodia interpunctella*. *Journal of Insect Science*, 10(13), 1-12.
22. Slama, K. & Lafont, R. (1995). Insect hormones-ecdysteroids: their presence and actions in vertebrates. *European Journal of Entomology*, 92, 355-377.
23. Sayyed, A. H., Attique, N. M. R., Khaliq, A. & Wright D. J. (2005). Inheritance of resistance and cross-resistance to deltamethrin in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) from Pakistan. *Pest Management Science*, 61, 636-642.
24. Schmelz, E. A., Grebenok, R. J., Galbraith, D. W. & Bowers, W. S. (1999). Insect-induced synthesis of phytoecdysteroids in spinach, *Spinacia oleracea*. *Journal of Chemical Ecology*, 25, 1739-1757.
25. Sota, N., Motoyama, N., Fujisaki, K. & Nakasui, F. (1998). Possible amplification of insecticide hormoligosis from resistance in the *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). *Applied Entomology and Zoology*, 33, 435-440.
26. Tabashnik, B. E. & Slansky, F. J. (1987). Nutritional ecology of forb foliage-chewing insects. In: Nutritional ecology of insects, mites, spiders, and related invertebrates, eds. Slansky, F. Jr. and Rodriguez, J. G., pp. 71-103. Wiley, New York.
27. Yin, X. H., Wu, Q. J., Li, X. F., Zhang, Y. J. & Xu, B. Y. (2008). Sublethal effects of spinosad on *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). *Crop Protection*, 27, 1385-1391.
28. Zolotar, R. M., Bykhovets, A. I. & Kovganko, N. V. (2001). Effect of certain phytoecdysteroids on larvae of *Leptinotarsa decemlineata*. *Chemistry of Natural Compounds* 37, 537-540.