

تأثیر بازدارندگی پایی پروکسی فن بر برخی از شاخص‌های فیزیولوژیک کفشدوزک *Adalia decempunctata* L. (Col.: Coccinellidae)

دیانا ناصری^۱، جلال جلالی سندی^{۱*}، محمد قدمیاری^۱ و زهرا مجیب حق قدم^۲

۱- گروه گیاه پزشکی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران، ۲- مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی

و منابع طبیعی گیلان، رشت، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۶/۲۰

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۴/۲۹

چکیده

کفشدوزک *Adalia decempunctata* L. مشهور به کفشدوزک ده‌نقطه‌ای به‌عنوان شکارگری فعال هم در مرحله لاروی و هم حشره کامل محسوب می‌شوند. این حشره از روی انواع درختان میوه هسته‌دار، دانه‌دار، درختان جنگلی پهن‌برگ و سوزنی-برگ آلوده به آفات نظیر شته، شپشک و پسیل از مناطق مختلف جهان گزارش شده است. پرورش کلنی این شکارگر در شرایط آزمایشگاهی (دمای 25 ± 2 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 75 ± 5 درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) انجام شد. در این پژوهش، آزمایش زیست‌سنجی با یکی از تنظیم‌کننده‌های رشد حشرات به نام پایی پروکسی فن به روش موضعی مورد بررسی قرار گرفت. غلظت‌های IC_{10} ، IC_{30} ، IC_{50} و IC_{90} به ترتیب $1/6$ ، $1/33$ ، $3/49$ و $6/130$ میکروگرم بر میلی‌لیتر تخمین زده شد. هم‌چنین برخی از مهم‌ترین شاخص‌های بیوشیمیایی در لاروهای سن چهارم تیمار شده با غلظت‌های بازدارنده پایی پروکسی فن مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که میزان لیپید و پروتئین نسبت به شاهد به‌طور نسبی افزایش ولی میزان گلیکوژن در لاروهای تیمار شده کاهش معنی‌داری یافت. فعالیت آنزیم‌های سم‌زدا (گلوکاتایون اس-ترانسفراز و استرازهای عمومی) در لاروهای تیمار شده به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت. آنزیم پراکسیداز نیز فعالیت افزایشی معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان داد. با توجه به اینکه پایی پروکسی فن دارای ماهیت هورمون جوانی است، بنابراین مراحل نابالغ شکارگر مذکور تحت تأثیر قرار می‌گیرند؛ در حالی که حشرات کامل به دلیل گذار از این مرحله به هورمون رشد وابسته نبوده و کم‌تر تحت تأثیر قرار می‌گیرند. بنابراین بررسی‌های تکمیلی در خصوص استفاده هم‌زمان از پایی پروکسی فن و شکارگر فوق در شرایط صحرائی لازم می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: کفشدوزک، پایی پروکسی فن، گلوکاتایون اس - ترانسفراز، پراکسیداز، بازدارندگی

*نویسنده مسئول: j.j.sendi@gmail.com

مقدمه

نتیجه افزایش مصرف آفت‌کش‌ها شود (Barbosa et al., 2017). دشمنان طبیعی و پارازیتوئیدها در مقابله با آفت-کش‌ها بسیار حساس هستند (Martinou et al., 2014)، ولی حشره‌کش‌های انتخابی با عوامل کنترل تلفیقی آفات سازگارتر هستند (Galvan et al., 2005).

تنظیم‌کنندگان رشد حشرات^۱ (IGRs) به منظور کنترل بسیاری از آفات، مورد استفاده هستند و نحوه‌ی عملکرد آن‌ها از طریق مهار تشکیل کیتین یا به صورت شبه‌هورمون‌های جوانی^۲ (JHA) است (Tiwari et al., 2012). تنظیم-کننده‌های رشد حشرات می‌توانند جایگزین مناسبی برای آفت‌کش‌ها باشند، زیرا عملکرد آن‌ها مناسب و سازگار با محیط زیست است (Arthur et al., 2009). با وجود اینکه تنظیم‌کنندگان رشد حشرات سمیت کم‌تری روی حشرات مفید دارند، اما میزان سازگاری آن‌ها با عوامل کنترل بیولوژیکی باید مورد بررسی قرار گیرد (Liu and Chen, 2000). پژوهش‌های زیادی نشان داده‌اند که قرار گرفتن در معرض این دسته از آفت‌کش‌ها ممکن است باعث تلفات زیاد شکارگرها و پارازیتوئیدهای مفید شود (Yu et al., 2014). هم‌چنین گزارش شده است که تنظیم‌کنندگان رشد حشرات می‌توانند بر رشد جمعیت دشمنان طبیعی که به‌عنوان عوامل کنترل بیولوژیکی عمل می‌کنند، تأثیر بگذارند (Mohammadi et al., 2014).

قرار گرفتن حشرات مفید در معرض آفت‌کش‌ها علاوه بر کشندگی، آن‌ها را از تأثیر زیرکشندگی نیز بی‌نصیب نخواهد کرد (Biondi et al., 2012). نقش ماکرومولکول‌ها نظیر پروتئین، گلیکوژن و لیپید در فرآیند رشدی و تکمیل چرخه‌ی زندگی حشرات بدون شک از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. حشرات این مواد را برای ساختار، تشکیل بافت، پوست اندازی، رشد اووسیت‌ها و یا فرآیند اسپرماتوژنز و دیپوز مورد استفاده قرار می‌دهند (Nation, 2008). آنزیم‌هایی نظیر استرازها به گروه متنوعی از آنزیم‌های سم‌زدا اطلاق می‌شود که از طریق

شته‌ی جالیز *Aphis gossypii* Glover (Hem.: Aphididae) حشره‌ای چندخوار است و گیاهان مختلفی را مورد حمله قرار می‌دهد. این شته خسارت زیادی را در گلخانه‌های پرورش خیار در اروپا (Kocourek et al., 1994; Blackman and Eastop, 2000) و نیز در گلخانه‌ها و مزارع پرورش خیار در ایران ایجاد کرده است (Zamani et al., 2006). این آفت علاوه بر خسارت مستقیم با ترشح عسلک و هم‌چنین انتقال ویروس‌های بیماری‌زای گیاهی خسارت غیر مستقیم نیز به محصولات وارد می‌کند (Dáder et al., 2012).

کفشدوزک ده نقطه‌ای *Adalia decempunctata* L. (Col.: Coccinellidae) شکارگر مهم شته‌ها در زیست بوم‌های کشاورزی عرصه‌های طبیعی است و بیشتر روی درختان متمرکز است و کمتر روی بوته‌ها و گیاهان علفی دیده می‌شود (Honek, 1985). پژوهش‌های موجود در زمینه دامنه‌ی میزبانی و پراکنش کفشدوزک *A. decempunctata* نشان می‌دهد که لارو و حشرات کامل این کفشدوزک به‌عنوان شکارگری فعال، از روی انواع درختان میوه هسته‌دار، دانه‌دار، درختان جنگلی پهن‌برگ و سوزنی‌برگ آلوده به آفاتی نظیر شته‌ها، شپشک‌ها، پسپل‌ها از مناطق مختلف جهان جمع‌آوری، شناسایی و گزارش شده است (Magro et al., 1999; Guncan, et al., 2010, 2011; Prodanovic et al., 2010; Salehi et al., 2011; Mohamad poor et al., 2013; Kacar, 2015). یکی از ویژگی‌های این گونه که به‌عنوان یک مزیت زیستی برای آن محسوب می‌شود، وجود حالت‌های چندشکلی یا پلی مورفیسم بالا است که بین جمعیت‌های آن در نقاط مختلف زیستگاهی مشاهده می‌شود (Evans et al., 2011).

آفت‌کش‌های شیمیایی از عوامل مهم کنترل جمعیت آفات هستند (Youn et al., 2003) و استفاده از آن‌ها می‌تواند باعث کاهش تأثیر زیان‌بار مستقیم و غیرمستقیم آفات گیاه‌خوار شود (Rugno et al., 2015)، اما استفاده بیش از حد از آفت‌کش‌ها می‌تواند اثربخشی عوامل کنترل بیولوژیک را کاهش و باعث شکل‌گیری مقاومت و در

1. Insect growth regulators
2. Juvenile hormone analogue

لیوان‌های پلاستیکی با ارتفاع ۱۰ سانتی‌متر کاشته شد و پس از دو برگی شدن به گلدان‌های پلاستیکی با قطر ۱۴ و ارتفاع ۱۶ سانتی‌متر در گلخانه‌ی دانشکده‌ی علوم کشاورزی دانشگاه گیلان انتقال یافتند. بستر رشد گیاهان، خاک زراعی همراه با کوکوپیت به نسبت مساوی بود.

پرورش شته جالیز *A. gossypii*

شته‌ی جالیز از روی گل‌های ختمی در سطح شهر رشت و دانشکده‌ی علوم کشاورزی دانشگاه گیلان جمع‌آوری و پس از شناسایی با توجه به منابع معتبر (رضوانی، ۱۳۸۹)، روی بوته‌های خیار که در مرحله‌ی ۴-۵ برگی قرار داشتند، مستقر شدند. پس از استقرار کامل و آلوده‌سازی بوته‌ها، برگ‌های خیار به همراه شته‌ی جالیز جهت تغذیه در اختیار کفشدوزک‌ها قرار گرفتند.

پرورش کفشدوزک *A. decempunctata*

برگ‌های حاوی شته و دسته‌های تخم و سنین مختلف لاروی کفشدوزک *A. decempunctata* از درخت‌های انار در منطقه شاندرمن و ماسال و گل‌های ختمی در سطح شهر رشت جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند. پرورش در شرایط اتاقک رشد با دمای 25 ± 2 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 70 ± 5 درصد و دوره نوری ۸:۱۶ ساعت (تاریکی: روشنایی) انجام شد. بدین منظور از ظروف پلاستیکی درپوش‌دار شفاف به ابعاد $10 \times 8 \times 5$ سانتی‌متر استفاده شد، که روی درپوش آن‌ها به‌منظور تهویه، توری تعبیه شده بود. لاروها به‌صورت انفرادی در شرایط کنترل شده تا زمان شفیره شدن و ظهور حشرات کامل روی برگ‌های خیار حاوی شته جالیز پرورش یافتند. برای جلوگیری از خشک شدن برگ، انتهای دم‌برگ‌ها با پنبه‌های خیس شده با آب مقطر پیچیده شدند. سپس برگ‌های خیار که حاوی تخم کفشدوزک بود جدا و تا زمان تفریخ تخم‌ها در ظروف جداگانه در شرایط اتاقک پرورش نگهداری شدند. برای جلوگیری از هم‌خواری^۳ (Rondoni et al., 2012) لاروهای سن اول کفشدوزک پس از ظهور به‌صورت انفرادی درون ظرف‌های جداگانه به‌همراه برگ‌های خیار

کاهش سمیت با فعالیت‌های هیدرولیزی و یا از طریق رقابت جهت اتصال به ماده‌ی سمی، مولکول‌های هدف را حمایت می‌کنند (Memarizadeh et al., 2011). گلو‌تاتیون‌اس-ترانسفراز نیز به گروهی از آنزیم‌ها تعلق دارند که در سم-زدایی مواد سمی درون‌زاد و بیرونی، در انتقال مواد بین-سلولی، تولید هورمون‌ها و جلوگیری از تنش‌های اکسیداتیو نقش کلیدی دارند (Enayati et al., 2005). آفت‌کش‌ها هم‌چنین برخی از فرآیندهای فیزیولوژیکی یا بیوشیمیایی را تحت تأثیر قرار می‌دهند که بر زنده‌مانی، رشد، تکامل، ازدیاد و حتی رفتار دشمنان طبیعی تأثیر می‌گذارد (Fernandes et al., 2016). پاپیری پروکسی فن^۱ از گروه پیریدین‌ها و به نسل سوم حشره‌کش‌ها تعلق دارد و جزء تنظیم‌کننده‌های رشد حشرات نیز محسوب می‌شود. این آفت‌کش به دلیل خاصیت انتخابی خود در برابر دشمنان طبیعی برای کنترل آفات توصیه شده است (Gerling, 1998; Ishaaya et al., 1998). پاپیری پروکسی فن به-عنوان یک شبه‌هورمون جوانی در آفات مختلف علاوه بر خواص تخم‌کشی قوی، روی لاروها به‌خصوص لاروهای مسن‌تر تأثیر کشندگی نیز دارد (Horowitz and Ishaaya, 1994). در حال حاضر پاپیری پروکسی فن علیه مگس‌های سفید و شپشک‌ها و پسیل‌ها در مزارع و باغ‌ها مورد استفاده است. بنابراین هدف از این پژوهش بررسی تأثیر مستقیم و غیر مستقیم این آفت‌کش روی یکی از شکارگرهای مفید و موجود در این گونه مزارع و باغ‌ها به نام کفشدوزک *Adalia decempunctata* L. می‌باشد.

مواد و روش‌ها

پرورش گیاه میزبان

به منظور پرورش گیاه میزبان، به‌صورت هفتگی تعداد ۳۰ عدد بذر خیار (رقم ویکتور^۲) ۲۴ ساعت در آب ولرم خیس‌انده شد. سپس به‌مدت ۴۸ ساعت روی دستمال نمناک و در مکان تاریک قرار داده شد. پس از جوانه‌زنی درون

1. Pyriproxyfen
2. Victor

3. Cannibalism

میکرولیتر بافر فسفات^۱ همگن شد. نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه و دمای چهار درجه سلسیوس سانتریفیوژ شدند. سپس به ۱۰ میکرولیتر از محلول رونشین، ۵۰۰ میکرولیتر معرف بردفورد اضافه شد (معرف بردفورد: ۱۰ میلی‌گرم پودر کوماسی برلیانت بلو^۲ G250 در ۵ میلی لیتر اتانول^۳ ۹۶٪ حل شده و مقدار ۱۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک^۴ (w/w) ۸۵٪ به آن اضافه و حجم محلول با آب مقطر به ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد). میزان جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه میکروپلیت ریدر (AWARENESS (Stat Fax 3200 Co., USA) در طول موج ۶۳۰ نانومتر خوانده شد. میزان پروتئین کل با استفاده از منحنی استاندارد پروتئین سرم گاوی محاسبه شد.

اندازه‌گیری میزان لیپید و گلیکوژن

برای اندازه‌گیری میزان لیپید و گلیکوژن به روش وان هندل عمل شد (Van Handel, 1965). بدین منظور تعداد سه عدد لارو سن چهارم در ۱۰۰ میکرولیتر سولفات سدیم^۵ ۲٪ (۰/۲ گرم در ده میلی لیتر آب مقطر) همگن شد و سپس با اضافه کردن ۷۵۰ میکرولیتر محلول کلروفورم^۶ متانول^۷ (۱:۲) به مدت ۱۰ دقیقه در ۸۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد.

برای اندازه‌گیری میزان لیپید، ۲۵۰ میکرولیتر از محلول رونشین برداشته شد و برای تبخیر محلول موجود در آن در آون با دمای ۴۰ درجه سلسیوس قرار گرفت. سپس، به نمونه خشک شده ۵۰۰ میکرولیتر اسیدسولفوریک^۸ اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه (دمای ۹۰ درجه سلسیوس) در بن ماری قرار داده شد. پس از سرد شدن، ۳۰ میکرولیتر از نمونه‌ها همراه با ۲۷۰ میکرولیتر معرف وانیلین^۹ (۶ میلی‌گرم وانیلین حل شده در یک میلی لیتر آب مقطر و چهار میلی لیتر اسید

حاوی شته‌ی جالیز قرار داده شدند. پس از تشکیل کلتی اولیه، برای به دست آوردن لاروهای هم‌سن، حشرات نر و ماده داخل ظروف پرورش به ابعاد ۵×۸×۱۰ سانتی‌متر به-همراه برگ خیار حاوی شته قرار داده شدند. پس از ۲۴ ساعت، تخم‌های گذاشته شده روی برگ‌ها به ظرف پرورش دیگری منتقل شدند.

آزمایش‌های زیست‌سنجی

در این پژوهش حشره‌کش پایی پروکسی فن ماده‌ی تکنیکال (۹۷٪) خریداری شده از مجتمع شیمیایی بیستون (کرمانشاه-ایران) مورد استفاده قرار گرفت. شش غلظت ۵، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر از پایی پروکسی فن با حلال استون (Merck Co., Germany) تهیه شد. برای تعیین IC₁₀, IC₃₀, IC₅₀ و IC₉₀ تعداد ۹۰ لارو سن چهارم به ازای هر غلظت و ۹۰ لارو به ازای شاهد مورد آزمایش قرار گرفت. قسمت پشتی (بند دوم شکمی) هر لارو به وسیله میکرواپلیکاتور (Drummond, USA) با غلظت ۲ میکرولیتر به صورت موضعی تیمار شد. میزان تلفات و بدشکلی‌ها (لارو ماندگار، شفیره ماندگار و حالت بین شفیره و حشره‌ی کامل) تا زمان ظهور حشره‌ی کامل ثبت شد و میزان IC₁₀-IC₉₀ با استفاده از نرم‌افزار POLO-PC (1987) تخمین زده شد.

آزمایش‌های بیوشیمیایی

بعد از انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی، لاروهای سن چهارم با غلظت‌های IC₁₀ و IC₃₀ پایی پروکسی فن تیمار شدند و لاروهای زنده مانده بعد از ۲۴ و ۷۲ ساعت جدا شد و برای انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی مورد استفاده قرار گرفتند. هم‌چنین لاروهای سن چهارم تیمار شده با استون به عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. برای انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی از کل بدن لاروها و برای یکتواخت‌سازی نمونه‌ها از هموژنایزر دستی استفاده شد.

اندازه‌گیری پروتئین کل

برای اندازه‌گیری پروتئین از روش بردفورد استفاده شد (Bradford, 1976). بدین منظور، هر لارو با ۱۰۰

1. Phosphate buffer
2. Coomassie brilliant blue
3. Ethanol
4. Phosphoric acid
5. Sodium sulfate
6. Chloroform
7. Methanol
8. Sulfuric acid
9. Vanillin

کایتیک^۶ و در زمان‌های مختلف خوانده شد و از شیب خط رگرسیونی برای محاسبه فعالیت آنزیم‌های استراز استفاده شد.

اندازه‌گیری میزان فعالیت گلوکوتایون اس-ترانسفراز^۷

به منظور اندازه‌گیری فعالیت گلوکوتایون اس-ترانسفراز به روش هیگگ مورد انجام شد (Habig et al., 1974). با استفاده از سوبسترای CDNB^۸ ابتدا هر لارو در ۱۵۰ میکرولیتر بافر فسفات همگن شد. سپس، محلول همگن شده در ۱۲۰۰۰ هزار دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در چهار درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد. سپس ۱۰ میکرولیتر از محلول رونشین با ۱۱۰ میکرولیتر بافر فسفات، ۸۰ میکرولیتر سوبسترای CDNB (1.2 mM) و ۱۰۰ میکرولیتر گلوکوتایون احیا شده^۹ (10 mM) GSH مخلوط شد. جذب نمونه‌ها در طول موج ۳۴۰ نانومتر هر ۲۰ ثانیه و در ۱۱ تکرار خوانده شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز^{۱۰} POD

برای اندازه‌گیری آنزیم پراکسیداز از روش برگمیر استفاده شد (Bergmeyer, 1974). بدین منظور تعداد دو عدد لارو سن چهارم در ۱۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم همگن و به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در چهار درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد. واکنش در حجم ۰/۵ میلی‌لیتر انجام شد که شامل ۲۲۵ میکرولیتر (پراکسید هیدروژن^{۱۱} ۲۲۵ میلی‌مولار) و ۲۲۵ میکرولیتر (گایاکول^{۱۲} ۴۵ میلی‌مولار) انجام شد و از ۵۰ میکرولیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با pH برابر با هفت به عنوان بلانک استفاده شد. در این روش فعالیت آنزیم که در نتیجه اکسیداسیون گایاکول می‌باشد، با پایش تغییرات جذب در طول موج ۴۵۰ نانومتر از زمان صفر تا دو دقیقه هر ۳۰ ثانیه اندازه‌گیری شد.

فسفریک ۸۵٪) داخل چاهک‌های پلیت الیزا قرار داده شد. پس از ۳۰ دقیقه میزان جذب در طول موج ۵۴۵ نانومتر خوانده شد. میزان لپید کل با استفاده از منحنی استاندارد کلسترول تعیین شد.

برای تعیین مقدار گلیکوژن از ته‌نشین محلول سانتریفیوژ شده استفاده شد. ابتدا ته‌نشین سه بار در متانول ۸۰٪ شستشو شد و سپس به آن ۲۵۰ میکرولیتر آب مقطر اضافه شد و به مدت پنج دقیقه (دمای ۷۰ درجه سلسیوس) در بن‌ماری حرارت داده شد. سپس به ۱۰۰ میکرولیتر آن، ۵۰۰ میکرولیتر معرف آنترون^۱ اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۹۰ درجه سلسیوس در بن‌ماری حرارت داده شد. سپس ۲۵۰ میکرولیتر از نمونه‌ها داخل چاهک‌های پلیت الیزا منتقل و میزان جذب آن‌ها در طول موج ۶۳۰ نانومتر خوانده شد. میزان گلیکوژن کل هر لارو با استفاده از منحنی استاندارد گلیکوژن محاسبه شد.

اندازه‌گیری فعالیت استراهای عمومی

فعالیت استراهای عمومی مطابق روش ون اسپرن اندازه‌گیری شد (Van Asperen, 1962). برای اندازه‌گیری فعالیت استراز از سوبسترهای آلفا- نفتیل استات^۲ و بتا- نفتیل استات^۳ استفاده شد. ابتدا هر لارو در ۱۰۰ میکرولیتر بافر فسفات (20mM; pH 7.0) حاوی تریتون^۴ به نسبت ۰/۱ درصد همگن شد، سپس محلول همگن شده در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه در ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد. ۱۳ میکرولیتر از محلول رونشین با ۱۱۲ میکرولیتر بافر فسفات، ۲۵ میکرولیتر سوبسترا و ۵۰ میکرولیتر معرف رنگی^۵ به چاهک‌های پلیت الیزا اضافه شد و جذب محصول رنگی ایجاد شده در طول موج ۴۵۰ نانومتر برای سوبسترای آلفا- نفتیل استات و ۵۴۰ نانومتر برای سوبسترای بتا- نفتیل استات هر ۳۰ ثانیه یکبار با ۱۲ تکرار خوانده شد. جذب محصول رنگی به صورت

6. Kinetic
7. Glutathione S-transferase
8. 1-Chloro-2,4-dinitrobenzene
9. Glutathione
10. Peroxidase
11. H₂O₂
12. Guaiacol

1. Anthrone
2. Alpha naphthyl acetate
3. Beta naphthyl acetate
4. Triton
5. Fast blue RR salt

تجزیه و تحلیل داده‌ها

میزان غلظت‌های بازدارنده‌ی پایی پروکسی فن با استفاده از نرم‌افزار (1987) POLO-PC تخمین زده شد. آزمایش‌ها در قالب طرح کامل تصادفی انجام شد. تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار (2002) SAS 9.1 و مقایسه میانگین‌ها پس از نرمال‌سازی با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

حشرات شکارگر از طریق روش‌های مختلف، به‌طور مستقیم و یا غیر مستقیم با تغذیه از طعمه‌های آلوده به آفت-کش‌ها و یا به دلیل تماس با بقایای آفت‌کش‌ها روی گیاهان، تحت تأثیر قرار می‌گیرند (Medina et al., 2003). مقادیر بازدارندگی (IC_{10} ، IC_{30} ، IC_{50} و IC_{90}) ترکیب پایی پروکسی فن را روی لارو سن چهارم کفشدوزک *A. decempunctata* به ترتیب ۱۸/۶، ۳۳/۱، ۴۹/۳ و ۱۳۰/۶ میلی‌گرم بر لیتر برآورد شد (جدول ۱). علیزاده و همکاران (2012) Alizadeh et al. غلظت کشنده‌ی فرمولاسیون 10% EC آن را برای لارو سن سوم پروانه پشت الماسی، ۲/۰۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش کرده‌اند. از طرف دیگر، شریفی و همکاران (Sharifi et al., 2013) میزان غلظت کشنده را برای لارو سن پنجم بید آرد، ۴۵/۷۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر برآورد کرده‌اند، اما مطالعه حاضر نشان می‌دهد که این ترکیب روی شکارگر مذکور تأثیر بازدارندگی بیش‌تری داشته است. به‌طور کلی پژوهش‌ها در خصوص تأثیر این آفت‌کش و سایر تنظیم‌کنندگان رشد روی شکارگرها بسیار محدود است. مدینا و همکاران (2003) Medina et al. غیر سمی بودن این ترکیب را برای لارو بالتوری سبز گزارش کردند. هم‌چنین مطالعه ناگایی (1990) Nagai روی سن *Orius* نیز نتیجه مشابهی داشته و نشان از امن بودن این ترکیب برای شکارگر مذکور دارد. لذا می‌توان نتیجه گرفت که تأثیر سمیت این آفت‌کش روی حشرات آفت و شکارگرها متفاوت است. این نتیجه می‌تواند انگیزه‌ای برای استفاده از این ترکیب به منظور حفظ شکارگرها باشد.

میزان لپیید در لاروهای تیمار شده با غلظت‌های IC_{10} و IC_{30} پایی پروکسی فن، ۲۴ ساعت پس از تیمار افزایش معنی‌داری نشان داد ($F=16.13$, $df=2,9$, $P=0.0029$). هم‌چنین، مقدار لپیید، ۷۲ ساعت پس از تیمار اختلاف معنی‌داری بین شاهد و تیمار نشان داد ($F=48.33$, $df=2,9$, $P=0.0001$) (شکل ۱). حشرات بعد از قرار گرفتن در معرض آفت‌کش‌ها به سنتز و ذخیره‌سازی چربی می‌پردازند و با کمک ذخایر چربی به تنش‌های فیزیولوژیکی ایجاد شده توسط ترکیبات سمی و یا آلاینده‌های زیست محیطی غلبه می‌کنند (Shahriari et al., 2019)، بنابراین این احتمال وجود دارد که افزایش مقدار لپیید در لاروهای تیمار شده به دلیل پاسخ به تنش وارد شده با پایی پروکسی فن باشد. لپییدها منابع حیاتی انرژی حشرات محسوب می‌شوند و تنظیم آن‌ها توسط غدد درون-ریز تبیین می‌شود (Nation, 2008). شبه هورمون جوانی از عوامل مهم سنتز و مصرف لپیید در حشرات محسوب می‌شود (Etebari et al., 2007). به‌نظر می‌رسد که لارو این کفشدوزک به دلیل افزایش مقدار هورمون جوانی در همولف (تحت تیمار با پایی پروکسی فن)، مجبور به سنتز لپیید و ذخیره‌سازی آن شده و سپس آن را کاتابولیز می‌کند تا به مصرف فرآیندهای متابولیکی به‌ویژه زمانی که طول دوره‌ی لاروی افزایش می‌یابد، برساند (Chapman, 2013). در حشرات با دگردیسی کامل، لاروها به دوره‌ی شفیرگی ورود پیدا می‌کنند و بنابراین عملکرد لپیید در حضور شبه هورمون جوانی اختلاف فاحشی را با حشرات دارای دگردیسی ناقص نشان می‌دهد. برای مثال، باقری و همکاران (2010) Bagheri et al. کاهش لپیید را در حشرات تیمار شده خود، *Brachynema germari* Kol. (Hemiptera.: Pentatomidae) که یک حشره‌ی دارای دگردیسی ناقص است، گزارش می‌کنند. تحقیق حاضر با نتایج سایر پژوهشگران (Etebari et al., 2007; Shekari et al., 2008) از نظر افزایش لپیید که روی حشرات دارای دگردیسی کامل کار کرده‌اند، مشابه و با تحقیق باقری و همکاران متفاوت است.

IC₃₀ و IC₁₀ پایی پروکسی فن، میزان پروتئین به طور معنی داری نسبت به شاهد افزایش یافته است (F=14.01, df=2,9, P=0.0017)، اما بین تیمارها اختلاف معنی داری وجود ندارد. پروتئین‌ها نقش بنیادی در ساختار آنزیم‌های مختلف، هورمون‌ها، ریخت‌سازی، اسکلیتین شدن کوتیکول، دیپوز و انتقال پیام‌های عصبی دارند (Chapman, 2013). بررسی‌ها در خصوص تأثیر شبه-هورمون جوانی (پایی پروکسی فن) در بال‌پولکداران (کرم ابریشم) نشان داده است که مقدار پروتئین کل کاهش پیدا می‌کند (Etebari et al., 2007). شبه‌هورمون جوانی، حشره را تحت تنش قرار می‌دهد، بنابراین لارو برای تشکیل آنزیم‌های سم‌زدا و به‌ویژه استرازاها، پروتئین را تجزیه و به اسیدهای آمینه تبدیل می‌کند (Perveen and Miyata, 2000; El-Sayed et al., 2018). در تحقیق حاضر، افزایش میزان پروتئین کل بدون در نظر گرفتن نوع پروتئین‌ها را می‌توان به نقش هورمون جوانی در سنتز و آزاد سازی پروتئین‌های ساختاری که در جلد به کار می‌روند و یا به احتمال در تولید میکرو و ماکرو ویتولوزن‌هایی نسبت داد که سبب بروز حالت‌های بین شفیره و لارو می‌شوند. در خصوص راسته سخت‌بالپوشان، افزایش مقدار پروتئین و ژن منتسب به فعال‌سازی پروتئین گزارش شده است که با تحقیق حاضر در میزان افزایش سطح پروتئین مطابقت دارد (Aribi et al., 2006).

همان‌طور که در شکل ۴ قابل مشاهده است، فعالیت ویژه آلفا-استراز در لاروهای سن چهارم تیمار شده با غلظت‌های IC₃₀ و IC₁₀ پس از ۲۴ (F=11.58, df=2,9, P=0.0032) و ۷۲ (F=12.46, df=2,9, P=0.0011) ساعت افزایش یافت. در شکل ۵، فعالیت ویژه بتا-استراز تحت تیمار IC₃₀، ۲۴ ساعت پس از تیمار با شاهد دارای اختلاف معنی دار است (F=14.92, df=2,9, P=0.0036). در ۷۲ ساعت پس از تیمار، هر دو غلظت مورد استفاده با شاهد اختلاف معنی داری نشان دادند (F=49.07, df=2,9, P=0.0001). آنزیم‌های سم‌زدا در حشرات نقش بسیار موثری را در غیر فعال کردن ترکیبات خارجی داشته و در حفظ شرایط با ثبات فیزیولوژی حشره

بر اساس نتایج به‌دست آمده در شکل ۲ میزان گلیکوژن در ۲۴ ساعت (F=93.77, df=2,9, P=0.0001) و ۷۲ ساعت (F=26.19, df=2,9, P=0.0002) نسبت به شاهد کاهش یافته است. کربوهیدرات‌ها که شامل قندهای ساده نشاسته و سایر پلی‌ساکاریدها هستند، از اجزای مهم غذایی حشرات محسوب می‌شوند. این ترکیبات جزء سوخت تنفسی هستند، قابلیت تبدیل به چربی را دارند و هم‌چنین در سنتز اسیدهای آمینه مشارکت دارند. علاوه بر این کوتیکول حشرات واجد پلی‌ساکارید کیتین می‌باشد (Chapman, 2013). گلیکوژن به‌عنوان یک کربوهیدرات ذخیره شدنی و پلی‌مری از گلوکز محسوب می‌شود. هورمون آدیپوکائینتیک (AKH) در تجزیه گلیکوژن به گلوکز نقش دارد و هورمون‌های شبه انسولین (ILPs) نیز در تجزیه آن‌ها دخالت دارند که اولی در اجسام کاردیاکا و دومی توسط اجسام آلاتا ترشح می‌شوند (Chapman, 2013). به نظر می‌رسد که به دلیل افزایش فعالیت اجسام آلاتا به دلیل حضور پایی پروکسی فن، تجزیه گلیکوژن انجام شده، بنابراین کاهش مقدار گلیکوژن از این منظر قابل توجیه است. از طرفی، کاهش در میزان گلیکوژن ناشی از شکسته شدن آن در اجسام چربی و انتشار آن به‌صورت ترهالوز تحت شرایط تنش به‌دلیل حضور پایی پروکسی فن تلقی شده است (Nath, 2003). نتایج تحقیق حاضر با نتایج میرحق‌پرست و همکاران (Mirhaghparast et al., 2015) و رحیمی و همکاران (Rahimi et al., 2013) که به‌ترتیب تأثیر هگزافلومورون و پایی پروکسی فن را به ترتیب روی کرم ساقه خوار برنج و کرم غوزه‌ی پنبه، گزارش کرده‌اند، منطبق است.

همان‌طور که در شکل ۳ نشان داده شده است، میزان پروتئین در لاروهای تیمار شده با غلظت IC₃₀ پایی-پروکسی فن ۲۴ ساعت پس از تیمار نسبت به شاهد افزایش یافته است (F=16.64, df=2,9, P=0.0017). این در حالی است که ۷۲ ساعت پس از تیمار با هر دو غلظت

1. Adipokinetic hormone
2. Insulin-like peptides

پایی پروکسی فن، میزان فعالیت پروکسیداز نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد ($F=19.93$, $df=2,9$)، اما بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. حشرات در مقایسه با بسیاری از مهره‌داران طول عمر کوتاهی دارند، اما بیش‌تر تحت تأثیر تنش‌های اکسیداتیو قرار دارند. رشد و نمو، زنده‌مانی، زادآوری و طول عمر حشرات ممکن است تحت تأثیر پرواکسیدان‌ها^۳ و اکسیژن‌های واکنش‌گر قرار گیرد. بنابراین حشرات دارای مجموعه‌ای از آنزیم‌ها هستند که در حذف اکسیژن‌های واکنش‌گر از بدن حشرات نقش دارند که یکی از این آنزیم‌ها پراکسیداز است (Felton and Clinton, 1995). افزایش فعالیت پراکسیداز در این پژوهش نشان می‌دهد که این آنزیم برای کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از پراکسید هیدروژن فعالیت بیشتری نشان داده است که این تنش وارده می‌تواند به علت در معرض قرار گرفتن پایی پروکسی فن باشد.

پایی پروکسی فن به عنوان یک تنظیم‌کننده‌ی رشد در حشرات محسوب می‌شود و بر اساس گزارش منتشر شده روی حشراتی نظیر شته *A. gossypii* تأثیر قابل توجهی در مراحل پورگی نشان داده است (Barrania and Abou-Taleb, 2014). بر اساس همین گزارش، پایی پروکسی فن تأثیر چندانی روی مراحل بالغ ندارد و دلایل تأثیر آن روی مراحل نابالغ از طریق اختلال در فرایند رشد است. از طرفی دیگر، گزارش‌هایی مبنی بر بروز مقاومت در *A. gossypii* به سموم نئونیکوتینوئیدها^۴ نظیر ایمیداکلورپراید^۵ وجود دارد (Hirata et al., 2017). بنابراین استفاده از ترکیباتی با تأثیر کند و با هدف تأثیر روی مراحل نابالغ، و هم‌چنین با تأثیر کمتر روی دشمنان طبیعی مطلوب‌تر به نظر می‌رسد (Rothwangle et al., 2004). بررسی حاضر نشان می‌دهد که آفت‌کش پایی پروکسی فن ترکیبی به نسبت امن است، بنابراین امکان رهاسازی حشرات بالغ شکارگر *A. decempunctata* همراه با این آفت‌کش قابل بررسی

حیاتی می‌باشند (Li and Liu, 2007; Sayyed et al., 2010). طبق گزارش‌ها، استرازاها به‌عنوان یکی از عوامل اصلی در مقاومت مگس خانگی نسبت به آنالوگ‌های هورمون جوانی محسوب می‌شوند (Bull and Meola, 1994; Li et al., 2007)، بنابراین افزایش فعالیت استرازاها در تحقیق حاضر را می‌توان به‌حضور پایی پروکسی فن نسبت داد.

فعالیت GST ۲۴ ساعت پس از تیمار با پایی پروکسی فن (IC₁₀ و IC₃₀) نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری نشان نداد (F=18.01, df=2,9, P=0.0044). پس از ۷۲ ساعت تحت تیمار IC₃₀ اختلاف معنی‌داری نسبت به شاهد و IC₁₀ دیده شد (F=39.56, df=2,9, P=0.0001) (شکل ۶). آنزیم گلوکوتایون اس- ترانسفراز در مقاومت حشرات به حشره‌کش‌ها نقش اساسی دارد (Vanhaelen et al., 2001). افزایش معنی‌دار GST ۷۲ ساعت پس از تیمار تحت غلظت IC₃₀ نشان‌دهنده‌ی نقش آن در سم‌زدایی پایی پروکسی فن است. نتایج حاضر منطبق با گزارش فهمی در لارو *Spodoptera littoralis* پس از تیمار دو نوع IGR به‌نام‌های بوپروفزین^۱ و پایی پروکسی فن بود که به این نتیجه رسید که بوپروفزین توانست GST را فعال کند، اما در مورد پایی پروکسی فن فعالیت محسوسی مشاهده نشد (Fahmy, 2012).

پراکسیدازها از جمله ترکیبات بسیار مهم در سامانه آنتی‌اکسیدانی حشرات محسوب می‌شوند و نقش حیاتی در تنش اکسیداتیو دارند. تنش اکسیداتیو به معنی عدم توازن بین تولید رادیکال‌های آزاد و متابولیت‌های فعال نظیر گونه‌های فعال اکسیژن است^۲ (ROS) (Piner and Uner, 2013). نتایج حاصل از اندازه‌گیری فعالیت ویژه پراکسیداز (شکل ۷) در لاروهای سن چهارم تیمار شده با غلظت‌های IC₁₀ و IC₃₀ پس از ۲۴ ساعت به شاهد افزایش یافته است (F=26.64, df=2,9, P=0.0001). این در حالی است که ۷۲ ساعت پس از تیمار با هر دو غلظت IC₁₀ و IC₃₀

3. Prooxidants
 4. Neonicotinoid
 5. Imidacloprid

1. Buprofezin
 2. Reactive Oxygen Species

سپاسگزاری

از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه گیلان برای تأمین بخشی از کمک‌های مالی جهت انجام این پژوهش قدردانی می‌شود.

است. هرچند کاربرد هم‌زمان این شکارگر و آفت‌کش مذکور در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه نیازمند بررسی‌های تکمیلی است تا بتوان به یک نتیجه‌ی قطعی رسید.

جدول ۱- واکنش لاروهای سن چهارم *Adalia decempunctata* به پایی پروکسی فن و برآورد مقادیر IC_{90} , IC_{50} , IC_{30}

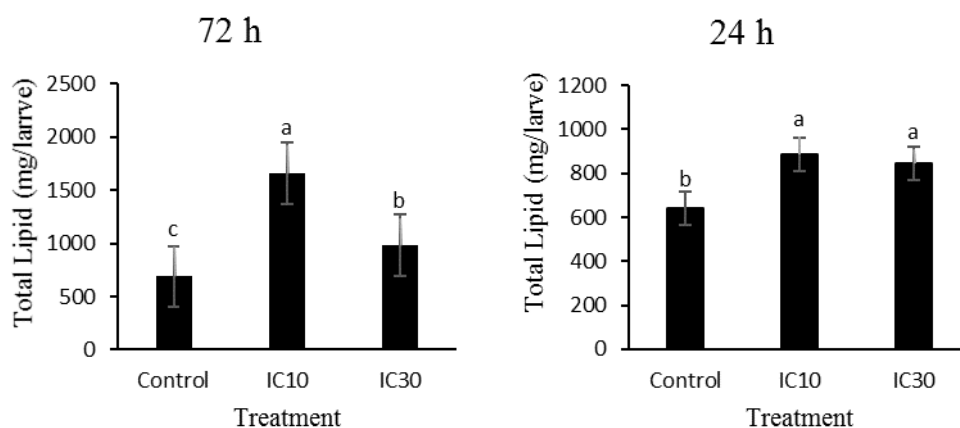
IC_{10} بر حسب میلی گرم بر لیتر، حدود اطمینان (۹۵٪) و شیب خط رگرسیونی پس از تیمار

Table 1. Response of the 4th instar larvae of *Adalia decempunctata* to pyriproxyfen and estimation of (IC_{10} , IC_{30} , IC_{50} and IC_{90}) in mg per liter, confidence limit (%95) and regression slope after treatment

IC_{10} (mg ai/L) (95% CL) *	IC_{30} (mg ai/L) (95% CL) *	IC_{50} (mg ai/L) (95% CL) *	IC_{90} (mg ai/L) (95% CL) *	X^2 (df) **	Slop \pm SE
18.6 (13.3 - 23.4)	33.1 (26.9 - 38.4)	49.3 (43.1 - 55.1)	130.6 (112.03 - 161.6)	3.1 (4)	3.03 \pm 0.31

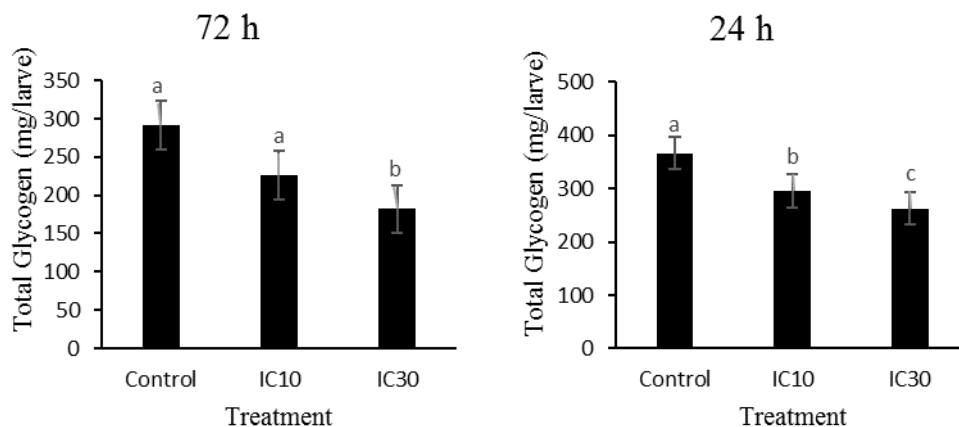
*CL=Confidence Limit ** X^2 =Chi-Square, (df)=Degrees of freedom

Data were recorded after all the controls became adult.



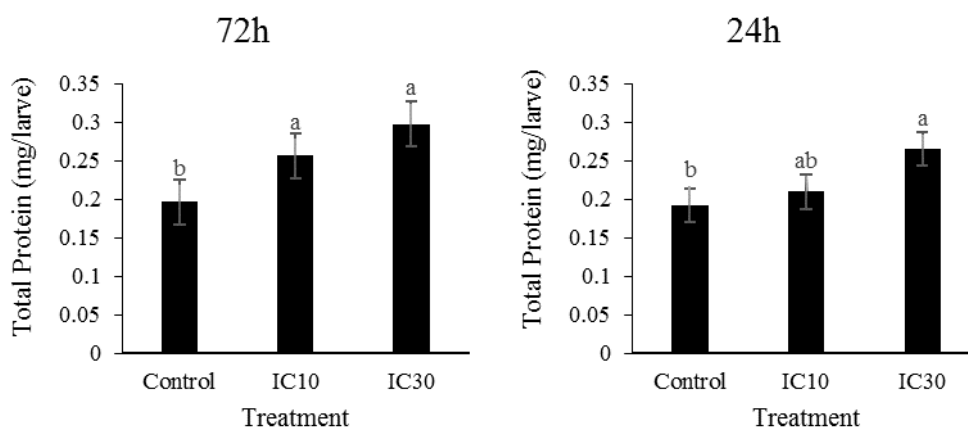
شکل ۱- میانگین \pm خطای معیار لیپید بر حسب میلی گرم بر لارو در لاروهای سن چهارم *Adalia decempunctata* تیمار شده با غلظت‌های IC_{10} و IC_{30} (میانگین‌هایی که با حروف متفاوت نشان داده شده‌اند، دارای تفاوت معنی‌دار هستند ($P < 0.05$)).

Figure 1. The mean \pm SE of lipid in mg per larve in 4th larval stage of *Adalia decempunctata* treated with IC_{10} and IC_{30} concentrations (The means with different letters show significant differences at $P < 0.05$)



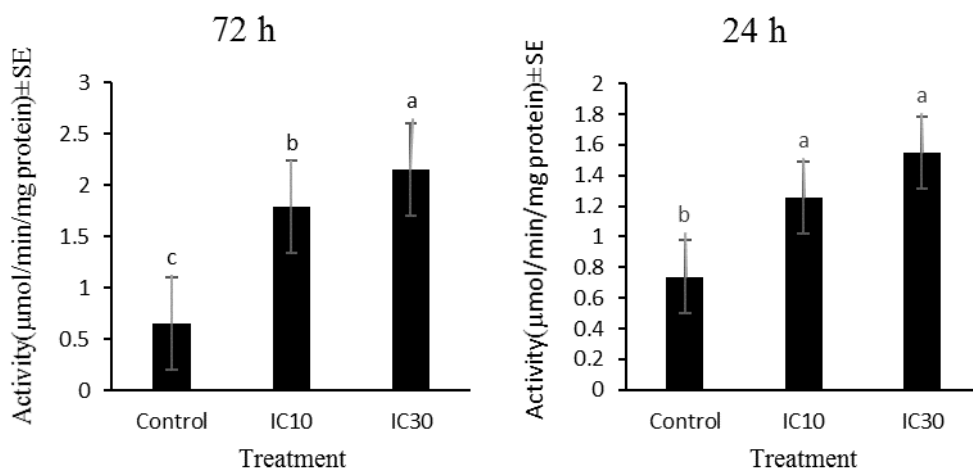
شکل ۲- میانگین \pm خطای معیار گلیکوژن بر حسب میلی گرم بر لارو در لاروهای سن چهارم *Adalia decempunctata* تیمار شده با غلظت‌های IC₁₀ و IC₃₀ پس از ۲۴ و ۷۲ ساعت (میانگین‌هایی که با حروف متفاوت نشان داده شده‌اند، دارای تفاوت معنی‌دار هستند ($P < 0.05$)).

Figure 2. The mean \pm SE of glycogen in mg per larve in 4rd larval stage of *Adalia decempunctata* treated with IC₁₀ and IC₃₀ concentrations after 24 and 72 hours (The means with different letters show significant differences at $P < 0.05$)



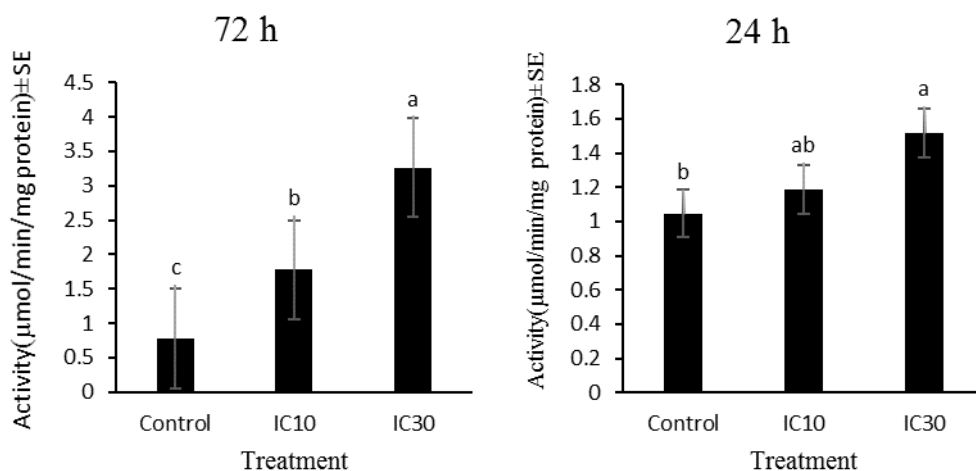
شکل ۳- میانگین \pm خطای معیار پروتئین بر حسب میلی گرم بر لارو در لاروهای سن چهارم *Adalia decempunctata* تیمار شده با غلظت‌های IC₁₀ و IC₃₀ پس از ۲۴ و ۷۲ ساعت (میانگین‌هایی که با حروف متفاوت نشان داده شده‌اند، دارای تفاوت معنی‌دار هستند ($P < 0.05$)).

Figure 3. The mean \pm SE of protein in mg per larve in 4rd larval stage of *Adalia decempunctata* treated with IC₁₀ and IC₃₀ concentrations after 24 and 72 hours (The means with different letters show significant differences at $P < 0.05$)



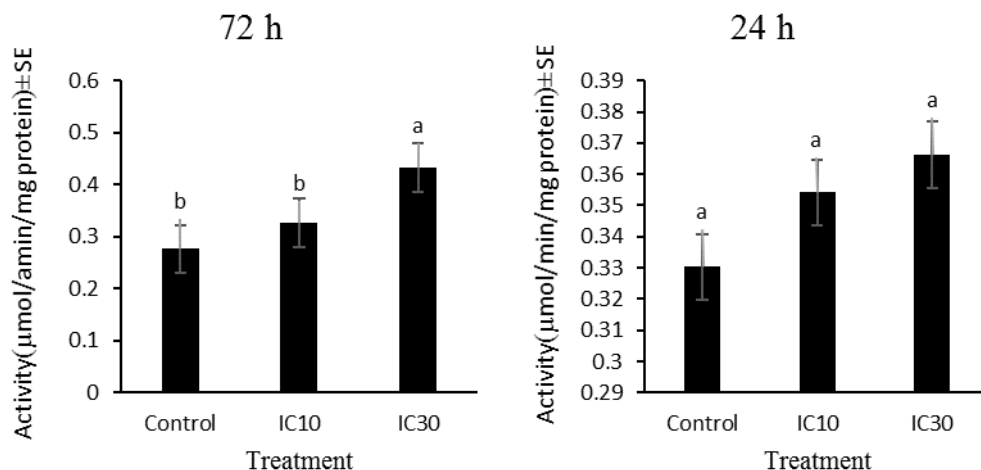
شکل ۴- فعالیت ویژه \pm خطای معیار آنزیم آلفا - استراز در لاروهای سن چهارم *Adalia decempunctata* تیمار شده با غلظت های IC_{10} و IC_{30} پس از ۲۴ و ۷۲ ساعت (میانگین هایی که با حروف متفاوت نشان داده شده اند، دارای تفاوت معنی دار هستند ($P < 0.05$)).

Figure 4. Specific activity \pm SE of α -esterase enzyme in 4th larval stage of *Adalia decempunctata* treated with IC_{10} and IC_{30} concentrations after 24 and 72 hours (The means with different letters show significant differences at $P < 0.05$)



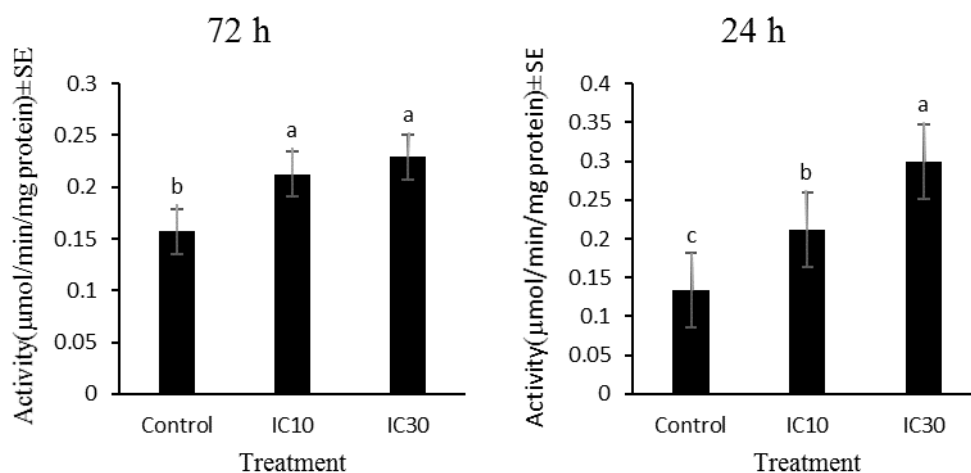
شکل ۵- فعالیت ویژه \pm خطای معیار آنزیم بتا - استراز روی لاروهای سن چهارم *Adalia decempunctata* تیمار شده با غلظت های IC_{10} و IC_{30} پس از ۲۴ و ۷۲ ساعت (میانگین هایی که با حروف متفاوت نشان داده شده اند، دارای تفاوت معنی دار هستند ($P < 0.05$)).

Figure 5. Specific activity \pm SE of β -esterase enzyme in 4th larval stage of *Adalia decempunctata* treated with IC_{10} and IC_{30} concentrations after 24 and 72 hours (The means with different letters show significant differences at $P < 0.05$)



شکل ۶- فعالیت ویژه \pm خطای معیار آنزیم گلوکوتاتیون اس-ترانسفراز روی لاروهای سن چهارم *Adalia decempunctata* تیمار شده با غلظت‌های IC₁₀ و IC₃₀ پس از ۲۴ و ۷۲ ساعت (میانگین‌هایی که با حروف متفاوت نشان داده شده‌اند، دارای تفاوت معنی‌دار هستند ($P < 0.05$)).

Figure 6. Specific activity \pm SE of glutathione S-transferase enzyme in 4th larval stage of *Adalia decempunctata* treated with IC₁₀ and IC₃₀ concentrations after 24 and 72 hours (The means with different letters show significant differences at $P < 0.05$)



شکل ۷- فعالیت ویژه \pm خطای معیار آنزیم پراکسیداز روی لاروهای سن چهارم *Adalia decempunctata* تیمار شده با غلظت‌های IC₁₀ و IC₃₀ پس از ۲۴ و ۷۲ ساعت (میانگین‌هایی که با حروف متفاوت نشان داده شده‌اند، دارای تفاوت معنی‌دار هستند ($P < 0.05$)).

Figure 7. Specific activity \pm SE of peroxidase enzyme in 4th larval stage of *Adalia decempunctata* treated with IC₁₀ and IC₃₀ concentrations after 24 and 72 hours (The means with different letters show significant differences at $P < 0.05$)

References

- Alizadeh, M., Karimzadeh, J., Rassoulia, G. R., Farazmand, H., Hoseini-Naveh, V. and Pourian, H. R. 2012. Sublethal effects of pyriproxyfen, a juvenile hormone analogue, on *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae): life table study. **Archives of Phytopathology and Plant Protection** 45(14): 1741–1763.
- Aribi, N., Smagghe, G., Lakbar, S., Soltani-Mazouni, N. and Soltani, N. 2006. Effects of pyriproxyfen, a juvenile hormone analog, on development of the mealworm, *Tenebrio molitor*. **Pesticide Biochemistry and Physiology** 84: 55–62.
- Arthur, F. H., Liu, S., Zhao, B. and Phillips, T. W. 2009. Residual efficacy of pyriproxyfen and hydroprone applied to wood, metal and concrete for control of stored-product insects. **Pest Management Science** 65: 791–797.
- Bagheri, F., Talebi, Kh. and Hosseinaveh, V. 2010. Cellular energy allocation of pistachio green stink bug, *Brachynema germari* Kol. (Hemiptera: Pentatomidae) in relation to juvenoid pyriproxyfen. **African Journal of Biotechnology** 9(35): 5746-5753.
- Barbosa, P., Oliveira, M. D., Barros, E. M., Michaud, J. P. and Torres, J. B. 2017. Differential impacts of six insecticides on a mealybug and its coccinellid predator. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 147: 963–971.
- Barrania, A. and Abou-Taleb, H. K. 2014. Field efficiency of some insecticide treatments against whitefly, *Bemisia tabaci*, cotton aphid, *Aphis gossypii* and their associated predator, *Chrysopa vulgaris*, in cotton plants. **Alexandria Journal of Agricultural Research** 59(2): 105-111.
- Bergmeyer, H. U. 1974. Methods of enzymatic analysis, vol II, Academic Press, New York. pp.495-496.
- Biondi, A., Mommaerts, V., Smagghe, G., Viñuela, E., Zappalà, L. and Desneux, N. 2012. The non-target impact of spinosyns on beneficial arthropods. **Pest Management Science** 68: 1523–1536.
- Blackman, R. L. and Eastop, V. F. 2000. Aphids on the world's crops: an identification and information guide (2nd ed.), Wiley, London, United Kingdom.
- Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. **Analytical Biochemistry** 72: 248-254.
- Bull, D. L. and Meola, R. W. 1994. Efficacy and toxicodynamics of pyriproxyfen after treatment of insecticide susceptible and resistant strains of the house fly (Diptera: Muscidae). **Journal of Economic Entomology** 87: 1407-1415.
- Dáder, B., Moreno, A., Viñuela, E. and Fereres, A. 2012. Spatio-temporal dynamics of viruses are differentially affected by parasitoids depending on the mode of transmission. **Viruses** 4: 3069-3089.
- Enayati, A. A., Ranson, H. and Hemingway, J. 2005. Insect glutathione transferases and insecticides resistance. **Insect Molecular Biology** 14(1): 3-8.
- Etebari, K., Bizhannia, A. R., Sorati, R. and Matindoost, L. 2007. Biochemical changes in haemolymph of silkworm larvae due to pyriproxyfen residue. **Pesticide Biochemistry and Physiology** 88: 14–19.
- Evans, E. W., Soares, A. O. and Yasuda, H. 2011. Invasions by ladybugs, ladybirds, and other predatory beetles. **Biological Control** 56(4): 597–611.
- Fahmy, M. N. 2012. Impact of two insect growth regulators on the enhancement of oxidative stress and antioxidant efficiency of the cotton leaf worm, *Spodoptera littoralis* (Biosd.). **Egyptian Academic Journal of Biological Sciences** 5(1): 137-149.
- Fernandes, M. E., Alves, F. M., Pereira, R. C., Aquino, L. A., Fernandes, F. L. and Zanuncio, J. C. 2016. Lethal and sublethal effects of seven insecticides on three beneficial insects in laboratory assays and field trials. **Chemosphere** 156: 45–55.
- Galvan, T. L., Koch, R. L. and Hutchison, W. D. 2005. Effects of spinosad and indoxacarb on survival, development, and reproduction of the multicolored Asian lady beetle (Coleoptera: coccinellidae). **Biological Control** 34: 108–114.
- Felton, G. W. and Summer, C. B. 1995. Antioxidant systems in insects. **Archives of insect Biochemistry and Physiology** 29: 187-197.

- Gerling, D.** 1990. Whiteflies: Their bionomics, pest status and management. Winborne, Uk, Intercept. 348 pp.
- Guncan, A. and Yoldas, Z.** 2010. Studies on the aphids (Hemiptera: Aphididae) and their natural enemies on peach orchards in Izmir. **Turkish Journal of Entomology Dergisi** 34(3): 399-408.
- Habig, W. H., Pabst, M. J. and Jakoby, W. B.** 1974. Glutathione S-transferases, the first enzymatic step in mercapturic acid formation. **Journal of Biology and Chemistry** 249: 7130-7139.
- Hirata, K., Akiya, J., Seigo, K., Kanazawa, J. and Takao, I.** 2017. The R81T mutation in the nicotinic acetylcholine receptor of *Aphis gossypii* is associated with neonicotinoid insecticide resistance with differential effects for cyano- and nitrosubstituted neonicotinoids. **Pesticide Biochemistry and Physiology** 143: 57-65.
- Hodek, I.** 1973. Biology of Coccinellidae. Praha: Academia publishing house of the Czechoslovak Academy of Sciences; 260 p.
- Honek, A.** 1985. Habitat preferences of aphidophagous Coccinellids (Coleoptera). **Entomophaga** 30(3): 253-64.
- Horowitz, A. R. and Ishaaya, I.** 1994. Managing resistadce to insect growth regulators in the sweet potato whitefly (Hom: Aleyrodidae). **Journal of Economic Entomology** 87(4): 866-871.
- Ishaaya, I., Mendelson, Z. and Melamed-Madgev, V.** 1998. Effects of buprofezin on embryogenesis and progeny formation of sweet potato whitefly (hom: Aleyrodidae). **Journal of Economic Entomology** 81(3): 781-78.
- Kacar, G.** 2015. Survey of Coccinellid species and their preys in olive groves in Turkey. **Egyptin Journal of Biological Pest Control**. 25(1): 157-161.
- Kocourek, F. Havelka, J. Derankova, J. and Jarosinc, V.** 1994. Effect of temperature on developmental rate and intrinsic rate of increase of *Aphis gossypii* reared on greenhouse cucumbers. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 71: 59-64.
- LeOra Software.** 1987. POLO-PC. A user's guide to probit or logit analysis. LeOra Software, Berkeley CA.
- Li, A., Guerrero, F. D. Y. and Pruett, J. H.** 2007. Involvement of esterases in diazinon resistance and biphasic effects of piperonyl butoxide on diazinon toxicity to *Haematobia irritans irritans* (Diptera: Muscidae). **Pesticide Biochemistry and Physiology** 87: 147-155.
- Li, X. Z. and Liu, Y. H.** 2007. Diet influences the detoxification enzyme activity of *Bactrocera tau* (Walker) (Diptera: Tephritidae). **Acta Entomologica Sinica** 50(10): 989-995.
- Liu, T. X. and Chen, T. Y.** 2000. Effects of the chitin synthesis inhibitor buprofezin on survival and development of immatures of *Chrysoperla rufilabris* (Neuroptera: Chrysopidae). **Journal of Economic Entomology** 93: 234-245.
- Magro, A., Araujo J. and Hemptinne J. L.** 1999. Coccinellids (Coleoptera: Coccinellidae) in citrus groves in Portugal: listing and analysis of geographical distribution. **Boletín de Sanidad Vegetal Plagas** 25: 335-45.
- Martinou, A. F., Seraphides, N. and Stavriniades, M. C.** 2014. Lethal and behavioral effects of pesticides on the insect predator *Macrolophus pygmaeus*. **Chemosphere** 96: 167-173.
- Medina, P., Smaghe, G., Budia, F., Tirry, L. and Vinuela, E.** 2003. Toxicity and Absorption of Azadirachtin, Diflubenzuron, Pyriproxyfen, and Tebufenozide after Topical Application in Predatory Larvae of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). **Environmental Entomology** 32(1): 196-203.
- Memarizadeh, N. Ghadamyari, M., Sajedi, R. H. and Jalali, J.** 2011. Characterization of esterases from abamectin-resistant and susceptible strains of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **International Journal of Acarology** 37(4): 271-281.
- Mohamad poor, A., Jafari, R. Biranvand, A. Zare M. and Rafiei Karahrudi, Z.** 2013. Ladybirds associated with Pomegranate trees in Lorestan province of Iran (Coleoptera: Coccinellidae). **International Research Journal of Applied and Basic Sciences** 5(12): 1585-1589.
- Mirhaghpour, S. K., Zibaee, A., Jalali Sendi, J., Hoda, H. and Fazeli-Dinan, M.** 2015. Immune and metabolic responses of *Chilo suppressalis* Walker (Lepidoptera: Crambidae) larvae to an insect growth regulator, hexaflumuron, **Pesticide Biochemistry and Physiology** 125: 69-77.
- Nagai, K.** 1990. Effects of a juvenile hormone mimic material, 4-phenoxyphenyl (RS)-2-(2-pyridyloxy) propyl ether, on *Thrips palmi* Karny (Thysanoptera: Thripidae) and its predator Orius sp. (Hemiptera: Anthocoridae). **Applied Entomology and Zoology** 25: 199-204.

- Nath, B. S.** 2003. Shifts in glycogen metabolism in hemolymph and fat body of the silkworm, *Bombyx mori* (Lep.: Bombycidae) in response to organophosphorus insecticides toxicity. **Pesticides Biochemistry and Physiology** 74: 73-74.
- Nation, J. L.** 2008. *Insect Physiology and Biochemistry*, 2nd edition. CRC Press.
- Perveen, F. and Miyata, T.** 2000. Effects of sublethal dose of chlorfluazuron on ovarian development and oogenesis in the common cutworm *Spodoptera lituralis* (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of the Entomological Society of America** 93: 1131-1137.
- Piner, P. and Ünerb, N.** 2013. Oxidative stress and apoptosis were induced by bio-insecticide spinosad in the liver of *Oreochromis niloticus*. **Environmental Toxicology and Pharmacology** 36(3): 956-963.
- Prodanovic, D. J., protic L. and Mihajlovic, L.** 2010. Predatorii parazitoidi *Cacopsylla pyri* L. (Hemiptera: Psyllidae). **Journal Pesticides and Phytomedicine** 25(1): 29-42.
- Rahimi, V., Zibae, A., Mojahed, S. Madahi, K. and Zare, D.** 2013. Effects of pyriproxyfen and hexaflumuron on cellular immunity of *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), Romanian, **Journal of Biological Zoology** 58(3): 114-126.
- Rahmani, S. and Bandani, A. R.,** 2013. Sublethal concentrations of thiamethoxam adversely affect life table parameters of the aphid predator, *Hippodamia variegata* Goeze (Coleoptera: Coccinellidae). **Crop Protection** 54: 168-175.
- Rezvani, A.** 2010. Identification key of Iran aphids. Iran organization of agricultural research. (in Farsi).
- Rondoni, G., Onofri, A. and Ricci, C.** 2012. Laboratory studies on intraguild predation and cannibalism among Coccinellid larvae (Coleoptera: Coccinellidae). **European Journal of Entomology** 109: 353-362.
- Rothwangl, K. B., Cloyd, R. A. and Wiedenmann, R. N.** 2004. Effects of Insect growth regulators on citrus mealybug parasitoid *Leptomastix dactylopii* (Hymenoptera: Encyrtidae). **Journal of Economic Entomology** 97(4): 1239-1244.
- Rugno, G. R., Zanardi, O. Z. and Yamamoto, P. T.** 2015. Are the pupae and eggs of the lacewing *cubana* (Neuroptera: chrysopidae) tolerant to insecticides., **Journal of Economic Entomology** 108: 2630 – 2639.
- Salehi, T., Pashaei Rad, S. H., Mehrnejad, M. R. and Shokri M. R.** 2011. Ladybirds associated with pistachio trees in part of Kerman province, Iran (Coleoptera: Coccinellidae). **Iranian Journal of Animal Biosystematics** 7: 157-69.
- SAS Institute.** 2002. SAS users guide: Statistics, version 9.1. SAS Institute, Cary, NC.
- Sayyed, A. H., Pathan, A. K. and Faheem, U.** 2010. Cross-Resistance, Genetics and Stability of Resistance to Deltamethrin in A Population of *Chrysoperla Carnea* from Multan, Pakistan. **Pesticide Biochemistry and Physiology** 9: 325-332.
- Shahriari, M., Zibae, A., Shamakhi, L., Sahebzadeh, N., Naseri, D. and Hoda, H.** 2019. Bio-efficacy and physiological effects of Eucalyptus globulus and Allium sativum essential oils against *Ephestia kuehniella* Zaller (Lepidoptera: Pyralidae). **Toxin Reviews** 36: 1556-9543.
- Sharifi, M. A., Kosari, A., Zibae, A. and Jalali Sendi, J.** 2013. Effects of Pyriproxyfen on detoxifying and intermediary enzymes of *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). **Plant Pests Research** 3(1): 35-44.
- Shaurub, E. H., Zohdy, N. Z., Abdel-Aal, A. E. and Emara, S. A.** 2018. Effect of chlorfluazuron and flufenoxuron on development and reproductive performance of the black cutworm, *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae). **Invertebrate Reproduction & Development** 62(1): 27-34.
- Shekari, M., Jalali Sendi, J., Etebari, K., Zibae, A. and Shadparvar, A.** 2008. Effects of *Artemisia annua* L. (Asteracea) on nutritional physiology and enzyme activities of elm leaf beetle, *Xanthogaleruca luteola* Mull. (Coleoptera: Chrysomellidae). **Pesticide Biochemistry and Physiology** 91: 66-74.
- Tiwari, S., Clayson, P. J., Kuhns, E. H. and Stelinski, L.** 2012. Effects of buprofezin and diflubenzuron on various developmental stages of asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*. **Pest Management Science** 68: 1405-1412.
- Van Asperen, K.** 1962. A study of housefly esterases by mean of sensitive colorimetric method. **Journal of Insects Physiology** 8: 401-416.

- Van Handel, E.** 1965. Microsporation of glycogen, sugars and lipids. **Analytical Biochemistry** 11: 266-272.
- Vanhaelen, N., Haubruge, E., Lognay, G. and Francis, F.** 2001. Hoverfly glutathione S-transferases and effects of Brassicaceae secondary metabolites. **Pesticides Biochemistry and Physiology** 71: 170-177.
- Youn, Y. N., Seo, M. J., Shin, J. G., Jang, C. and Yu, Y. M.** 2003. Toxicity of greenhouse pesticides to multicolored asian lady beetles, *Harmonia axyridis* (Coleoptera: coccinellidae). **Biological Control** 28: 164-170.
- Yu, C., Fu, M., Lin, R., Zhang, Y., Liu, Y., Jiang, H. and Theo, C. M. B.** 2014. Toxic effects of hexaflumuron on the development of *Coccinella septempunctata*. **Environmental Science and Pollution Research** 21: 1418-1424.
- Zamani, A., Talebi, A., Fathipour, A. and Baniameri, V.** 2006. Effect of temperature on biology and population growth parameters of *Aphis gossypii* Glover (Hom: Aphididae) on greenhouse cucumber. **Journal of Applied Entomology** 130(8): 453-460.

Plant Pest Research
2019- 9 (3): 41-57

Inhibitory effects of pyriproxyfen on some physiological parameters of *Adalia decempunctata* L. (Col.: Coccinellidae)

D. Nasser¹, J. Jalali Sendi^{1*}, M. Ghadamyari¹ and Z. Mojib-Haghghadam²

1. Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran,

2. Plant Protection Research Department, Guilan Agricultural and Natural Resources Research Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran

(Received: July 20, 2019- Accepted: September 11, 2019)

Abstract

The lady beetle *Adalia decempunctata* L. (Col.: Coccinellidae) is known as the ten-spotted ladybeetle, whose larvae and adults are active hunters. These insects have been reported from several stone-fruit trees, seed-fruit trees, broad leaved forest trees and coniferous forest trees infested with pests like aphids, mealybugs and psyllid from several countries on the world. The culture of this predator was maintained in laboratory condition (25 ± 2 °C, $75 \pm 5\%$ RH and 16:8h L:D). In this research, the bioassays of pyriproxyfen was performed through topical application method. The concentration of IC₁₀, IC₃₀, IC₅₀ and IC₉₀ were estimated 18.6, 33.1, 49.3 and 130.6 µg/ml, respectively. Also, in order to have a better understanding, some of the most important biochemical parameters were evaluated in the 4th instar larvae treated with sublethal concentrations of pyriproxyfen. The results showed that lipid and protein amount were relatively increased compared to control, while the glycogen amount was reduced in treated larvae. The activity of detoxifying enzymes (Glutathione S-transferase and general esterases) in treated larvae were significantly increased compared to control. The activity of peroxidase was also increase significantly compared to controls. As the pyriproxyfen is a juvenile hormone analogue, therefore the growing stages of this predator is affected. While adults that have surpassed this stage are no longer dependent to growth hormones and are less affected. Hence, supplementary evaluation of the use of pyriproxyfen and this predator at the same time under field conditions is needed.

Key words: Lady beetle, Pyriproxyfen, Glutathione S-transferase, Peroxidase, Inhibitory effect

*Corresponding author: j.j.sendi@gmail.com