آفات و بیماری‌های گیاهی
جلد ۷۶، شماره ۱، شهریور ۱۳۸۷

بررسی تأثیر پریکوسن-I و II روی رشد و نمو سوسک برگخوار سیب زمینی، *Leptinotarsa decemlineata*

Effects of Precocene-I and II on the development of Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*

حسین فرازمند[1]* و استانیسلاو چایکا[2]
۱- مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، ۲- دانشگاه دولتی مسکو
(تاریخ دریافت: آذر ۱۳۸۵، تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۸۶)

چکیده

سوسک برگخوار سیب‌زمینی، *Leptinotarsa decemlineata*، یکی از مهم‌ترین آفات سیب‌زمینی می‌باشد. پریکوسن، مهار کننده هورمون جوانی، اثر سمیت سلولی روی غدد آلاتای گونه‌های حشرات حساس داشته و با تأثیر بیولوژیکی بر علیه تعدادی از آفات بکار برده شده است. اثر پریکوسن-I و پریکوسن-II بر روی لارو سن دوم سوسک برگخوار سیب‌زمینی به روش موضعی بررسی شد. بر اساس نتایج بدست آمده، تیمار لاروهای سن دوم با پریکوسن-I و II منجر به افزایش طول دوره لاروی و افزایش مرگ و میر شد، ولی هیچ تأثیری روی طول دوره شفیرگی نداشت. علاوه بر آن بین طول دوره زندگی لارو و همچنین میزان مرگ و میر آن‌ها با غلظت پریکوسن همبستگی مشاهده شد. حداکثر میزان تلفات پریکوسن-I و II در غلظت ۵۰ میکروگرم، به ترتیب ۱۰۰ و ۹۵ درصد به ثبت رسید. پریکوسن در سوسک برگخوار سیب‌زمینی موجب کاهش تعداد سنین لاروی و دفعات پوست‌اندازی نشد، اما تشکیل زودرس صفات شفیرگی در روی لاروها را نشان داد. تیمار لاروها با پریکوسن منجر به تغییر شکل در لاروها، شفیره و حشرات کامل شد. کاهش اندازه، اختلال در تشکیل بندهای بدن، تغییر شکل شدید یا تحلیل کامل بال‌ها و بالپوش‌ها، حفظ کوتیکول قدیم و همچنین تشکیل

* Corresponding author: farazmand@entomologist.ir

Archive of SID
www.SID.ir

آدولتوئید نیز مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: سوسک برگخوار سیب‌زمینی، پریکوسن-I، پریکوسن-II، مهارکننده هورمون جوانی

مقدمه

سوسک برگخوار سیب‌زمینی[۱]، *Leptinotarsa decemlineata* Say (Col.: Chrysomelidae)، یکی از آفات مخرب سیب‌زمینی و دیگر گیاهان خانواده بادنجانیان[۲] است. بطوریکه در صورت عدم کنترل آفت ممکن است منجر به نابودی کامل محصول گردد. جهت کنترل این آفت، در حال حاضر بیشتر از روش‌های شیمیایی استفاده می‌شود. این روش‌ها علاوه بر مضرات و ملاحظات زیست محیطی باعث افزایش بروز مقاومت نسبت به حشره‌کش‌های رایج و در نتیجه سبب ایجاد مشکلات جدی در مدیریت کنترل این آفت شده است (Koopmanschap *et al*., 1989). برای کنترل سوسک برگخوار سیب‌زمینی در آینده نیاز به اعمال مدیریت تلفیقی است که در قالب آن از روش‌هایی از قبیل کنترل زراعی و کاربرد انواع جدید حشره‌کش‌های غیرشیمیایی با نحوه تأثیر متفاوت استفاده گردد.

بر همین اساس در طی سالیان اخیر دانشمندان در جستجوی یافتن حشره‌کش‌های بی خطری بودند که از یک طرف دارای خصوصیاتی از قبیل اثر انتخابی و کاهش خطر برای محیط زیست و موجودات غیرهدف بوده و از طرف دیگر مشکل بروز مقاومت نسبت به حشره‌کش‌های شیمیایی را حل کنند. پیدایش و شناسایی ترکیبات شیمیایی با منبع طبیعی مؤثر روی هورمون جوانی حشرات موجب تلاش در جهت سنتز آنالوگ‌های فعال بیولوژیکی بعنوان آفت‌کش شد. این مواد بیولوژیکی که در فرایند رشد و نمو حشرات اختلال ایجاد می‌کنند، ترکیبات تنظیم کننده رشد حشرات (IGR)[۳] نامیده می‌شوند. ترکیباتی که در بیوسنتز هورمون جوانی از طریق تحریک و یا مهار سنتز آن مداخله می‌کنند، توجه ویژه‌ای را بعنوان

۱- CPB (Colorado Potato Beetle)

۲- Solanacae

۳- Insect Growth Regulator

Archive of SID

www.SID.ir

یک پتانسیل بالقوه جهت کنترل حشرات بخود جلب کرده‌اند (Edvards & Menn, 1981). هورمون جوانی[1] از جمله هورمون‌هایی است که در بدن حشرات ترشح شده و پوست‌اندازی و دگردیسی را کنترل می‌کند. این هورمون مانع از دگردیسی در حشره شده و از ظهور قبل از موعد خصوصیات حشره کامل در ضمن رشد جلوگیری می‌کند. هورمون جوانی پس از سنتز در اجسام آلاتا و ترشح آن به همولنف، توسط حمل کننده‌های پروتئینی، که در اجسام چربی ترشح می‌شوند، به بافت‌های هدف می‌رسند (Yuhas *et al.*, 1983). تحریک و یا مهار تولید هورمون جوانی موجب تغییر غلظت آن در همولنف حشره شده و این باعث ایجاد اختلال در فیزیولوژی و رشد و نمو حشره می‌شود (Hoffmann & Lorenz, 1998). پس از کشف مهار کننده‌های هورمون جوانی (Bowers, 1976)، به دلیل نحوه تأثیر آن‌ها روی رشد و نمو حشرات و ایجاد دگردیسی زودرس، این گروه از ترکیبات پریکوسن[2] نامگذاری شدند. این ترکیبات اولین بار از گیاه زینتی بنام گل ابری[3] (*Ageratum houstonianum* Mill) از خانواده گل مرکبان[4] استخراج شدند (Bowers *et al.*, 1976). پریکوسن‌ها با تأثیر روی اجسام آلاتا باعث کاهش تولید هورمون جوانی می‌شوند. به عبارت دیگر پریکوسن در اجسام آلاتای حشرات در مراحل پایانی بیوسنتز هورمون جوانی از طریق رقابت با آنزیم‌های اکسید کننده، سیتوکروم P-450 را مهار کرده و در نتیجه اپوکسید غیرفعال و غیرپایدار پریکوسن تولید می‌شود (Ellis, 1983). درگیری سیتوکروم P-450 در متابولیسم پریکوسن منجر به کاهش بیوسنتز هورمون جوانی می‌شود. بعلاوه اپوکسیدهای پریکوسن اجزاء سلولی اجسام آلاتا را آلکیله کرده و در نهایت سلول‌های این عضو درون ریز را از بین می‌برند (Polivanova, 1984).

پریکوسن دارای اثر انتخابی بوده و در بسیاری از گونه‌های با دگردیسی ناقص سبب تغییرات فیزیولوژیکی و رفتاری شامل دگردیسی زودرس مراحل نابالغ و عقیمی حشرات ماده می‌شود. Bowers با توجه به خصوصیات ذکرشده، از پریکوسن بعنوان حشره‌کش نسل چهارم

۱- Juvenile hormone

۲- Precocene

۳- Floss flower

۴- Compositae

Archive of SID

www.SID.ir

یاد کرده و نشان داد که اثر انتخابی آن مربوط به اختلاف سرعت متابولیسم ترکیب در بدن حشرات مختلف می‌باشد (Ohta *et al*., 1977).

تأثیر پریکوسن برای راسته‌های اصلی حشرات مشخص شده است. در حشرات بی‌بال اولیه، اثر ضدهورمون جوانی و عقیم‌کنندگی آن در جنس *Thermobia domestica* Pack (Lepismatidae) مشخص شد (Bitsch & Bitsch, 1984). در بیشتر حشرات با دگردیسی ناقص، تأثیر پریکوسن در راسته‌های ناجوربالان، جوربالان، راست بالان، سوسری‌ها، مساوی‌بالان و شپش‌ها ثابت شده است. در گروه حشرات با دگردیسی کامل روی گونه‌هایی از راسته‌های بالپولکداران، سخت بالپوشان، دوبالان و بال‌غشائیان تحقیقات انجام شده است (Staal, 1986). به عنوان مثال کاربرد غلظت ۵۰ میکروگرم روی لاروهای سن ۳ کرم ابریشم باعث ایجاد تلفات شد (Das & Medda, 1987). عمل پریکوسن‌ها در تعدادی از ملخ‌ها و سیرسیرک‌ها به اثبات رسیده است (Bowers, 1976; Miall & Mordue, 1980). کاربرد پریکوسن–II در مرحله سن ۳ و ۴ پورگی ملخ صحرایی (*Schistocerca gregaria* Forskal) موجب پوست‌اندازی و دگردیسی زودرس بیشتر پوره‌ها شد. حشرات بدست آمده حدود ۲–۱/۵ برابر کوچک‌تر بوده و رشد و نمو تخمدان‌ها نیز در مراحل اولیه باقی مانده بود (Eid *et al*., 1988). همچنین تغذیه ملخ *Locusta migratoria* با گیاه سنتز کننده پریکوسن منجر به مرگ زودرس پوره‌ها در هنگام پوست‌اندازی به سن بعدی و نیز دگردیسی زودرس شده و در حشرات کامل بدست آمده از این پوره‌ها، قدرت تولیدمثل کاهش یافت (Polivanova & Triseleva, 1989; Triseleva, 2003; Nemec *et al*., 1978). دگردیسی زودرس در ملخ *Heteracris littoralis* Rambur در نتیجه کاربرد پریکوسن–I و II روی پوره‌های سن ۴ و ۵ نیز مشاهده شد (Alrubeai, 1986). کاربرد پریکوسن–II در سنین ۳، ۴ و ۵ پورگی زنجرک *Nilaparrata lugens* Stall، منجر به افزایش مرگ و میر در مرحله پورگی شده و این در حالی است که تیمار پوره‌های سنین ۳ و ۴ باعث دگردیسی زودرس و تیمار سن ۵ موجب تشکیل حشرات کامل با صفات پورگی گردید (Pradeep & Nair, 1989). علاوه بر موارد ذکر شده، نقش مهارکنندگی در فرایند تولیدمثل و ایجاد عقیمی‌در نتیجه کاربرد پریکوسن روی حشرات نیز نشان داده شده است (Bowers *et al*., 1976; Bitsch & Bitsch, 1984).

Archive of SID

www.SID.ir

در ارتباط با سوسک برگخوار سیب‌زمینی، تنظیم کننده‌های رشدی مختلفی از جمله آنالوگ‌های هورمون جوانی، مهار کننده‌های هورمون پوست‌اندازی و تعدادی دیگر از این گروه ترکیبات بر علیه این آفت استفاده شده‌اند. کاربرد ترکیباتی همچون آلسیستین، ناملولت، سنت و دیفلوبنزرون باعث کاهش جمعیت سوسک برگخوار سیب‌زمینی در مزارع سیب‌زمینی به میزان ۹۴-۸۲٪ گردید (Chorni, 2004). پریکوسن‌ها و ترکیبات سنتتیکی مخصوصاً ۲ و ۲-دی متیل کرومن اثرات سمی‌روی لاروهای سوسک برگخوار سیب‌زمینی نشان دادند (Darvas *et al.*, 1989). اثر حشره کشی ترکیبات بنزیل-۱ و ۳- بنزودی اکسول که یک عقیم کننده شیمیایی با فعالیت مهارکنندگی هورمون جوانی است، نشان داده شده است. در صورت تغذیه لاروهای سن-III با این ترکیب به میزان ۵۰ میکروگرم یا بیشتر باعث توقف تغذیه و مرگ لاروها شده و مرگ حشره کامل نیز با کاربرد ۲۵۰ میکروگرم ایجاد می‌شود (Mellaert *et al.*, 1983).

با توجه به اینکه از یک سو سوسک برگخوار سیب‌زمینی از مهم‌ترین آفات سیب‌زمینی بوده، جستجوی روش مؤثر کنترل جمعیت و نیز یافتن یک ترکیب جایگزین مصرف سموم شیمیایی جهت مبارزه با آن ارزشمند بوده و از سویی دیگر ترکیبات تنظیم کننده رشد حشرات و بخصوص مهارکننده‌های هورمون جوانی به اندازه کافی مورد مطالعه قرار نگرفته و از همه مهم‌تر اینکه تاکنون تأثیر ترکیبات مهارکننده هورمون جوانی روی حشرات با دگردیسی کامل بسیار کم بررسی شده است، بنابراین در این تحقیق تأثیر دو ترکیب مهارکننده هورمون جوانی، پریکوسن-I و II، روی رشد و نمو سوسک برگخوار سیب‌زمینی مطالعه شد.

روش بررسی

جهت انجام تحقیق، تخم‌های سوسک برگخوار سیب‌زمینی از مزارع سیب‌زمینی سمپاشی نشده جمع‌آوری و تحت شرایط آزمایشگاهی (دمای ۱±۲۵°C، رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد و شرایط نوری ۸ : ۱۶ [L:D]) نگهداری شد. کلیه آزمایش‌ها بر روی لاروهای سن دوم بدست آمده از این تخم‌ها انجام شد. به همین منظور لاروهای خارج شده از تخم، در ظروف پلاستیکی با حجم ۲۵۰ میلی‌لیتر و حاوی برگ‌های تازه گیاه سیب‌زمینی قرار داده شدند.

Archive of SID

www.SID.ir

برگ‌های سیب‌زمینی به صورت روزانه تعویض می‌شدند. بررسی تأثیر پریکوسن–I و پریکوسن–II بر روی رشد و نمو در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار و ۵۰ لارو در هر واحد آزمایشی و ۶ تیمار شامل غلظت‌های ۰/۱، ۱، ۲، ۳، ۵ درصد و استن خالص (شاهد) انجام شد. ترکیبات تنظیم کننده رشد مورد استفاده شامل پریکوسن–I (۷– متوکسی–۲ و ۲–دی متیل–۳–کرومن)[۱] و پریکوسن– II (۶ و ۷– دی متوکسی–۲ و ۲–دی متیل–۳–کرومن)[۲] با درصد خلوص ۹۹٪ ساخت شرکت Aldrich بودند. جهت آزمایش غلظت‌های مورد نیاز در استن تهیه شدند.

پس از تفریخ تخم‌ها، لاروها تا زمان اولین پوست‌اندازی پرورش داده شده و به محض پوست‌اندازی و ورود به سن دوم لاروی، محلول ترکیبات مورد نظر به روش موضعی و توسط میکروپیپت به میزان یک میکرولیتر روی سطح پشتی شکم هر لارو قرار داده شد. میزان ماده مؤثره قرار داده شده به ازاء هر لارو در تیمارهای آزمایش به ترتیب برابر با ۱، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۵۰ میکروگرم بود.

لاروهای تیمار شده تا مرحله شفیرگی درون ظروف پرورش، نگهداری شدند. ظروف آزمایش بطور روزانه مورد بازدید قرار گرفته و ضمن تعویض غذای آن‌ها با برگ‌های تازه، لاروهای مرده جهت بررسی‌های بعدی در محلول الکل اتیلیک ۷۰ درجه نگهداری شده و در ادامه آزمایش میزان تلفات و تغییرات مرفولوژیکی پس از هر پوست‌اندازی در لاروها و همچنین میزان تلفات و تغییرات ایجاد شده در شفیره‌ها و حشرات کامل بدست آمده ثبت شد. علاوه بر این وزن شفیره‌های بدست آمده در تیمارهای مختلف نیز اندازه‌گیری شد. نتایج بدست آمده در این تحقیق توسط نرم افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

جهت بررسی تأثیر ترکیبات مهار کننده هورمون جوانی بر روی ساختمان کوتیکولی لاروها، تعداد ۲۰۰ لارو سن دوم به روش قبلی با پریکوسن–I و II تیمار شدند. پس از هر پوست‌اندازی تعداد مساوی لارو زنده در محلول‌های الکل اتیلیک ۷۰ درجه (جهت

۱–7-methoxy-2, 2-dimethyl chromene

۲– 6,7-dimethoxy-2, 2-dimethyl-3-chromene

Archive of SID

www.SID.ir

بررسی‌های مرفولوژیکی)، گلوتارآلدئید ۲/۵٪ (جهت مطالعات میکروسکوپ الکترونی) و بوئن (جهت مطالعات بافت شناسی) نگهداری شدند (Roskin & Levinoson, 1957).

برای مطالعات بافت‌شناسی، از نمونه‌های نگهداری شده در بوئن استفاده شد. بدین منظور قطعات کوتیکولی نمونه‌ها در پارافین قرار گرفته و پس از تهیه برش توسط میکروتوم (ضخامت ۵ میکرون)، به روش هایدنهاین و مالوری (Roskin & Levinoson, 1957) رنگ آمیزی و در پایان توسط میکروسکوپ نوری دیجیتالی مورد مطالعه قرار گرفت. جهت مطالعات میکروسکوپ الکترونی، از نمونه‌های نگهداری شده در محلول گلوتارآلدئید استفاده شد. به همین منظور نمونه‌ها به ترتیب به مدت ۴ ساعت در بافر فسفات (PH=7.3) و ۲ ساعت در تتراکسید اسمیوم[1] ۲٪ قرار گرفتند. سپس با غلظت‌های مختلف اتانول (۳۰، ۴۸ و ۷۰ درجه) آبگیری و بعد به محلول اورانیل استات در الکل اتیلیک ۷۰ درجه برای مدت ۲۴ ساعت منتقل شدند. مراحل بعدی آبگیری با غلظت‌های ۹۶ و ۱۰۰ درجه اتانول و استن خالص انجام شد. سپس نمونه‌ها درون مخلوط رزین اپن[2] و استن به مدت ۲۴ ساعت و بعد درون رزین اپن در دمای ۳۷ و ۶۰ درجه سانتی‌گراد به ترتیب به مدت یک و سه شبانه روز قرار گرفتند. قطعات رزین حاوی بافت جدا شده و سپس از قسمت‌های مورد نظر بافت توسط دستگاه اولترامیکروتوم به ضخامت ۷۰ آنگستروم مقطع عرضی تهیه و به روش رینورد (با محلول اورانیل استات ۲٪ در اتانول ۵۰٪ و سیترات سرب) رنگ آمیزی و توسط میکروسکوپ الکترونی TEM[3] مدل JEM-100B مورد مطالعه قرار گرفتند (Miranov *et al.*, 1994).

نتیجه و بحث

۱- بررسی تأثیر پریکوسن-I و II روی رشد و نمو سوسک برگخوار سیب‌زمینی:

جهت بررسی تأثیر ترکیبات مورد نظر فاکتورهای زیر اندازه‌گیری شد:

۱- Osmium tetroxide

۲- Epon 812

۳- Transmission Electron Microscopy

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- تأیر غلظت‌های مختلف پریکوسن-I و II روی فاکتورهای رشد و نموی در شرایط آزمایشگاهی

Table 1- Effect of different concentrations of Precocene-I & II on CPB developmental factors[1] in vivo.[2]

Treatment	Larval Period (day)	Pupal Period (day)	Larval Mortality (%)	Pupal Mortality (%)	Pupal Weight (mg)	Adult Emergence (%)
تیمار	دوره لاروی (روز)	دوره شفیرگی (روز)	تلفات لاروی (٪)	تلفات شفیرگی (٪)	وزن شفیره (mg)	ظهور حشرات کامل (٪)
Precocene-I (1 µg)	15.7±1.2 **cd**	6.45±0.4 **a**	12.5±5.0 **e**	5.55±7.1 **a**	100.98±9.2 **a**	82.50±9.6 **a**
Precocene-I (10 µg)	16.0±1.8 **bc**	6.36±0.1 **a**	27.0±7.2 **e**	0.00±0.0 **a**	101.05±7.0 **a**	72.50±12.2 **a**
Precocene-I (20 µg)	18.0±2.5 **bc**	6.36±0.3 **a**	60.0±8.2 **bc**	8.50±5.0 **a**	101.11±4.7 **a**	35.00±12.9 **c**
Precocene-I (30 µg)	18.4±3.1 **bc**	6.20±0.5 **a**	70.0±8.3 **a**	0.00±0.0 **a**	106.34±7.6 **a**	30.00±18.3 **c**
Precocene-I (50 µg)	-	-	100±0.0 **a**	-	-	0.00±0.0 **d**
Precocene-II (1 µg)	16.3±0.9 **cd**	6.17±0.2 **a**	32.5±2.7 **de**	5.00±6.5 **a**	105.14±4.4 **a**	65.00±13.8 **ab**
Precocene-II (10 µg)	16.8±0.8 **cd**	6.06±0.4 **a**	35.0±3.5 **cde**	3.13±5.6 **a**	109.02±9.4 **a**	62.50±11.7 **ab**
Precocene-II (20 µg)	17.1±1.4 **cd**	6.28±0.3 **a**	37.5±6.2 **cde**	3.13±6.3 **a**	109.83±6.0 **a**	62.00±18.3 **ab**
Precocene-II (30 µg)	20.8±0.4 **ab**	6.10±0.1 **a**	57.5±8.6 **bcd**	0.00±0.0 **a**	113.38±9.9 **a**	37.50±9.6 **bc**
Precocene-II (50 µg)	22.5±0.7 **a**	6.00±0.0 **a**	95.0±5.8 **a**	0.00±0.0 **a**	107.40±5.8 **a**	5.00±5.8 **d**
Control	13.8±1.2 **d**	6.02±0.5 **a**	10.0±2.5 **e**	5.55±6.4 **a**	113.28±4.8 **a**	82.50±10.0 **a**

1- Means ± SE

2- Means within column followed by the same letter not found significant (P<0.05, DMRT)

www.SID.ir

۱- طول دوره لاروی و شفیرگی، ۲- درصد مرگ و میر لاروی و شفیرگی، ۳- وزن شفیره، ۴- درصد ظهور حشرات کامل (درصد تبدیل لارو سن دوم به حشره کامل).

نتایج آزمایشات نشان داد که کاربرد ترکیبات مهارکننده هورمون جوانی منجر به افزایش دوره نشو و نمای سوسک برگخوار سیب‌زمینی و بخصوص طول دوره لاروی می‌شود. بطوریکه تیمار لاروهای سن دوم با پریکوسن-I منجر به افزایش طول دوره لاروی تا ۱۸/۳ روز (غلظت ۳۰µg) شد، در حالیکه در تیمار شاهد این مقدار برابر ۱۳/۷ روز بود. بین غلظت‌های پایین‌تر پریکوسن-I اختلاف آماری معنی‌دار نبود، و کمترین میزان افزایش طول دوره لاروی مربوط به غلظت ۱ میکروگرم (۱۵/۷ روز) بود. همچنین تیمار لاروها با پریکوسن-II منجر به افزایش طول دوره لاروی تا ۲۲/۵ روز (غلظت ۵۰µg) شد. تیمار لاروها با غلظت‌های پایین‌تر نیز باعث افزایش طول دوره لاروی از ۱۶/۳ تا ۲۰/۸ روز شد (جدول ۱).

برخلاف طول دوره لاروی، این ترکیبات هیچ تأثیری بر روی طول دوره شفیرگی نداشتند. طول دوره زندگی شفیره‌های بدست آمده از لاروهای تیمار شده با غلظت‌های مختلف (۱ تا ۳۰ میکروگرم) پریکوسن-I و II، به ترتیب بین ۶/۲ تا ۶/۴ روز و ۶ تا ۶/۲ روز بدست آمد و این در حالی بود که طول دوره شفیرگی در تیمار شاهد برابر ۶/۲ روز بود (جدول ۱).

در ارتباط با میزان تلفات لاروی، ۱۰۰ درصد مرگ و میر لاروها در غلظت ۵۰µg پریکوسن-I مشاهده شد. در سایر غلظت‌ها، با افزایش غلظت، میزان مرگ و میر نیز افزایش یافت. بر خلاف پریکوسن-I، در غلظت ۵۰µg پریکوسن-II، تلفات لاروی به میزان ۹۵ درصد به ثبت رسید (شکل ۲). نتایج نشان می‌دهد که فعالیت حشره‌کشی پریکوسن‌ها بستگی به غلظت آن‌ها دارد، بطوریکه با افزایش غلظت میزان تلفات نیز افزایش می‌یابد. علاوه بر این تلفات لاروهای تیمارشده با غلظت‌های ۱، ۱۰ و ۲۰ میکروگرم در طی تمام دوره رشد و نمو تا زمان تشکیل شفیره ادامه می‌یابد ولی در تیمار با غلظت ۵۰ میکروگرم، بیشترین میزان مرگ و میر پس از یک روز مشاهده می‌شود. مقایسه روند تلفات لاروی در دو ترکیب آزمایش شده نشان می‌دهد که این روند در غلظت ۵۰ میکروگرم مشابه بوده ولی در سایر غلظت‌ها دارای اختلاف جزئی می‌باشند بطوریکه در غلظت‌های پایین‌تر پریکوسن-I بیشترین تلفات در سن دوم لاروی به ثبت رسید ولی در غلظت‌های پایین پریکوسن-II تلفات در سنین دوم و سوم

Archive of SID

www.SID.ir

کمتر بوده و فقط در غلظت‌های ۱۰ و ۱ میکروگرم پریکوسن-II، با افزایش سنین لاروی مقدار تلفات لاروی افزایش یافت (شکل ۱). بررسی مقادیر LD50 دو ترکیب، قدرت تأثیر بیشتر پریکوسن-I را نشان می‌دهد. مقدار LD50 برای پریکوسن-I بعد از ۱ و ۲ شبانه روز به ترتیب ۲۹ و ۲۴ میکروگرم و برای پریکوسن-II بعد از ۱ و ۲ شبانه روز به ترتیب ۳۸ و ۳۴ میکروگرم بود. با توجه به نتایج بدست آمده مشاهده می‌شود که در تمام غلظت‌ها، بیشترین میزان مرگ و میر در طی ۲-۱ روز پس از تیمار کردن ایجاد شده و علاوه بر آن میزان تأثیر پریکوسن-I در مقایسه با پریکوسن-II بطور نسبی بیشتر می‌باشد.

میزان مرگ و میر شفیرگی در تیمارهای حاصل از کاربرد دو ترکیب با شاهد فاقد اختلاف معنی‌دار بود. علاوه بر این وزن شفیره‌های حاصل از کاربرد پریکوسن-I نسبت به شاهد و نیز کاربرد پریکوسن-II مقدار کمتری بود، ولی از نظر آماری فاقد اختلاف معنی‌دار بود.

تیمار لاروها با ترکیبات مهارکننده هورمون جوانی روی ظهور حشرات کامل تأثیر داشته و منجر به کاهش تعداد حشرات خروجی شد. در نتیجه کاربرد پریکوسن-I بیشترین کاهش در غلظت‌های ۲۰ و ۳۰ و در کاربرد پریکوسن-II، میزان ظهور حشرات کامل از ۶۵٪ (غلظت ۱μg) تا ۵٪ (غلظت ۵۰μg) مشاهده شد، در حالیکه میزان ظهور در تیمار شاهد برابر با ۸۲/۵٪ بود (جدول ۱). با بررسی نتایج بدست آمده، مشاهده می‌شود که ترکیبات پریکوسن-I و II باعث افزایش طول دوره زندگی، مخصوصاً طول دوره لاروی، می‌شوند و تأثیری بر روی طول دوره شفیرگی و وزن شفیره ندارند.

نتایج بدست آمده در این بررسی مطابق با نتایج بدست آمده روی دیگر حشرات با دگردیسی کامل می‌باشد. در ارتباط با سوسک برگخوار سیب‌زمینی بایستی به این نکته اشاره کرد که تیمار لاروها با پریکوسن‌ها، باعث دگردیسی زودرس نشد در حالیکه باعث افزایش معنی‌دار طول دوره غیر بلوغ شد. این اثر پریکوسن‌ها و آنالوگ‌های آن‌ها در تعدادی دیگر از حشرات با دگردیسی کامل مانند پروانه *Spodoptera mauritia* و *Bombyx mori* نیز مشاهده شده است (Mathai & Nair, 1984). حتی تیمار موضعی روزانه پریکوسن-II با غلظت ۴۰μg روی شکم لاروهای سنین پنجم و ششم پروانه *S. mauritia* منجر به افزایش طول دوره سن بعدی لاروی شد و شفیره با ۶ روز تأخیر، در مقایسه با شاهد، تشکیل شد. تأخیر در تشکیل شفیره

Archive of SID

www.SID.ir

نیز مربوط به کاهش سطح غلظت هورمون جوانی در همولنف می‌باشد (Mathai & Nair, 1984). کاربرد پریکوسن-I و II در لاروهای *Spodoptera litura* باعث دگردیسی زودرس و تشکیل شفیره‌های ناقص شد. همچنین فرم‌های بینابین شامل بین لاروی-شفیرگی (لارو با صفات شفیرگی) و آدولتوئید (حشره کامل با صفات شفیرگی) تشکیل شد (Srivastava & Kumar, 1997). تأثیر پریکوسن‌ها، که در حشرات کامل با دگردیسی ناقص مشاهده می‌شود، با نتایج روی حشرات با دگردیسی کامل بطور کامل متفاوت است. علت این اختلاف هنوز مبهم بوده و بر اساس نظر برخی از دانشمندان علت آن را می‌توان در فرایند و سرعت متابولیسم پریکوسن در بدن حشرات جستجو کرد (Bowers, 1983). در بیشتر مطالعات، پریکوسن‌ها و آنالوگ‌های آن‌ها اگر چه باعث کاهش نشو و نمای لاروی به دلیل افزایش طول دوره لاروی می‌شوند، اما آن‌ها تشکیل حشرات کامل قبل از موعد را تحریک می‌کنند. چنین دگردیسی زودرس بویژه در راست بالان مخصوصاً ملخ‌ها (Chenevert *et al*., 1980; Islam, 1995)، سن‌ها (Azambuja *et al*., 1981) و تعدادی از شته‌ها (Hales & Mittler, 1988) مشاهده شده است.

۲- بررسی تأثیر پریکوسن-I و II روی ساختمان کوتیکولی سوسک برگخوار سیب‌زمینی: بر اساس نتایج بدست آمده، بدن بیشتر لاروهای تیمار شده با پریکوسن-I به میزان زیادی دفرمه شدند. اکثر بندهای انتهایی شکم دستخوش تغییرات شدند (شکل ۲-b). تعدادی از لاروها قادر به دفع پوسته لاروی سن قبلی نبوده و این پوسته بصورت یک پوشش بخش جلویی بدن آن‌ها را در بر می‌گرفت. حشرات کامل بدست آمده از لاروهای تیمار شده دارای مقدار زیادی تغییرات مورفولوژیکی بودند. طول بدن بیشتر آن‌ها در حدود ۶/۵±۰/۷ میلی‌متر بود که این مقدار گاهی به نصف طول بدن حشرات کامل شاهد (۱±۱۱ میلی‌متر) می‌رسید. مهم‌ترین تغییرات مشاهده شده در حشرات کامل شامل چین خوردگی جلد بدن، دفرمه شدن شدید بال‌ها و بالپوش‌ها و یا تحلیل کامل بال‌ها و نمو نامتناسب بخش‌های بدن مخصوصاً بخش انتهایی بود (شکل ۲-g،f و h). بیشتر حشرات کامل بدست آمده از لاروهای تیمار شده با پریکوسن-I (۶۰ درصد) به صورت آدولتوئید بوده که دارای صفات ظاهری حشره کامل و شفیره بودند.

در لاروهای تیمار شده با پریکوسن-II نیز تغییرات مشابهی مشاهده شد. بیشتر لاروهای

Archive of SID

www.SID.ir

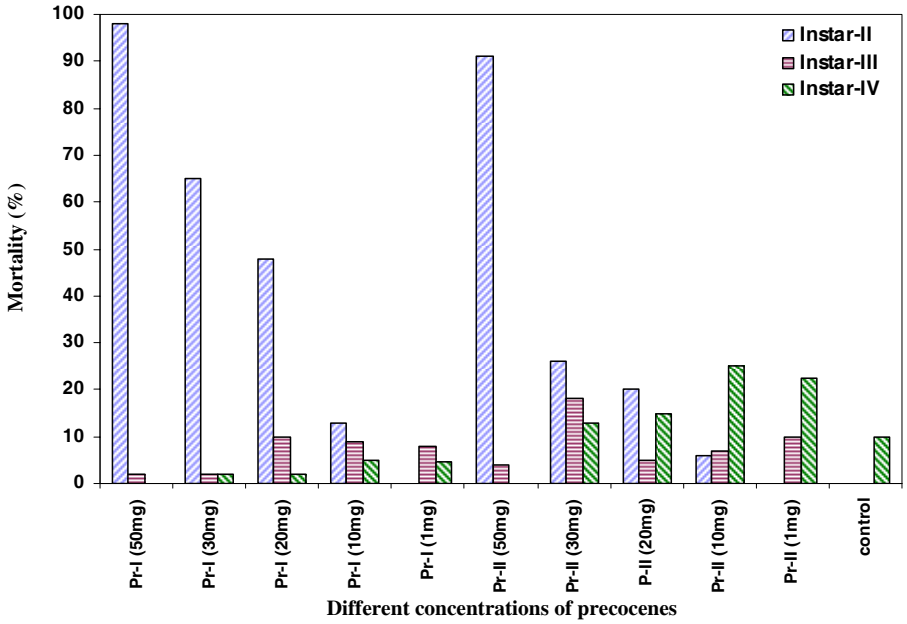
تیمار شده دارای اندازه کوچک‌تری (۳۰٪) نسبت به شاهد بودند، بطوریکه طول بدن لاروهای سن چهارم پس از رشد کامل در لاروهای تیمار شده حدود ۸±۲/۵ میلی‌متر به ثبت رسید. جلد لاروها به شدت دفرمه شده و بندهای انتهایی شکم دستخوش تغییر شدند (شکل ۳–a و b). تغییر شکل در شفیره‌ها (شکل ۳–c و d) و حشرات کامل (شکل ۳–e، f، g و h) مشابه تغییرات ایجاد شده تحت تأثیر پریکوسن–I نیز مشاهده شد.

مطالعه بافت شناسی ساختمان جلد لاروهای تیمار شده با پریکوسن‌ها تغییرات زیادی را در ساختمان جلد نشان داد. ترکیبات فوق باعث ایجاد تغییراتی در کوتیکول و همچنین لایه هیپودرم شدند. کوتیکول حاصل در لاروهای تیمار شده فاقد تعدادی از لایه‌ها منجمله لایه درون کوتیکول (کوتیکول درونی) و برون کوتیکول (کوتیکول بیرونی) بوده و ترکیبات مورد نظر باعث گسستگی، ورقه ورقه شدن و ایجاد شکاف در لایه درون کوتیکول شدند. همچنین وجود حفره در بین کوتیکول و نیز ایجاد فاصله بین لایه درون کوتیکول و لایه هیپودرم و تخریب سلول‌های هیپودرم از دیگر علائم تأثیر این ترکیبات بود (شکل ۴).

بررسی نتایج بدست آمده نشان داد که هر دو ترکیب مهارکننده هورمون جوانی مورد استفاده تغییرات زیادی را در رشد و نمو لاروها، شفیره‌ها و حشرات کامل ایجاد کردند. بیشتر لاروهایی که قادر به ادامه زندگی تا مرحله شفیرگی بودند، فرایند خروج حشرات کامل در آن‌ها به سختی صورت گرفت و معمولاً پس از خروج حشرات کامل، پوسته کوتیکولی نازک شفیره بر روی آن‌ها باقی ماند. و مهم‌تر از همه تشکیل فرم‌های بینابین لارو–شفیره و شفیره–حشره کامل (آدولتوئید) بود که این در نتیجه بهم خوردن توازن هورمونی بود (شکل ۳–d و f). نحوه تأثیر پریکوسن روی سنتز هورمون جوانی در سوسک برگخوار سیب‌زمینی و نیز دیگر حشرات با دگردیسی کامل هنوز بطور کامل مشخص نشده است. مطالعات نشان داده است که بیشتر حشرات به انواع پریکوسن‌ها حساس بوده و برخی نیز دارای حساسیت کم و تعدادی از حشرات نیز غیرحساس هستند. بیشترین حساسیت به پریکوسن‌ها در حشرات راسته‌های راست بالان، ناجوربالان و جوربالان بوده و حشراتی از راسته بالپولکداران، سخت بالپوشان و سوسری‌ها دارای حساسیت پایینی بوده و در مقابل پریکوسن بر روی برخی از حشرات مانند زنبور عسل فاقد تأثیر می‌باشد (Filipovich *et al.*, 1988).

Archive of SID

www.SID.ir



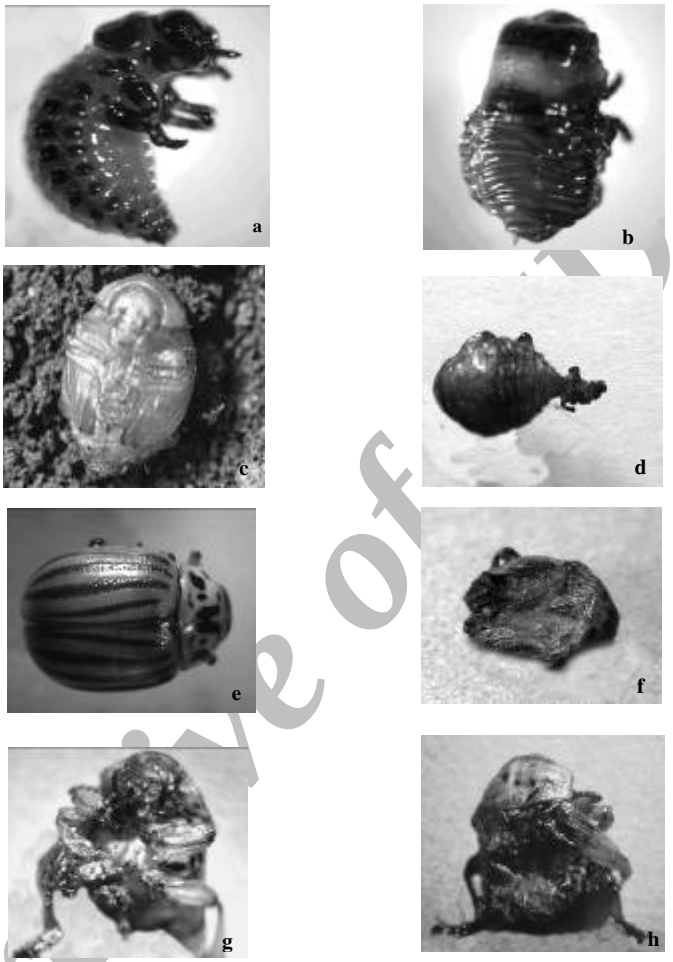
شکل ۱– میزان مرگ و میر سنین مختلف لاروی سوسک برگخوار سیب‌زمینی تحت تأثیر پریکوسن–I و II

Fig. 1- Larval instars mortality of CPB treated with Precocene-I & II

بر اساس نظر تعدادی از محققین، اثر اختصاصی پریکوسن در راسته‌های مختلف حشرات به متابولیسم این ترکیبات در بدن آن‌ها بستگی دارد. مخصوصاً اینکه، این اختلاف در متابولیسم پریکوسن–II در حشرات حساس با حشرات غیرحساس واضح است. در حشرات با دگردیسی ناقص مانند سن Dallas *Oncopeltus fasciatus*، که حساس به ترکیبات مهارکننده هورمون جوانی هستند، پریکوسن–II ابتدا در اجسام چربی تجمع پیدا کرده و سپس بتدریج از اجسام چربی وارد همولنف می‌شود ولی در حشرات با دگردیسی کامل، مانند Boddie *Heliothis zea*، پریکوسن–II به سرعت از اجسام چربی به درون دستگاه گوارش ترشح می‌شود.

Archive

www.SID.ir

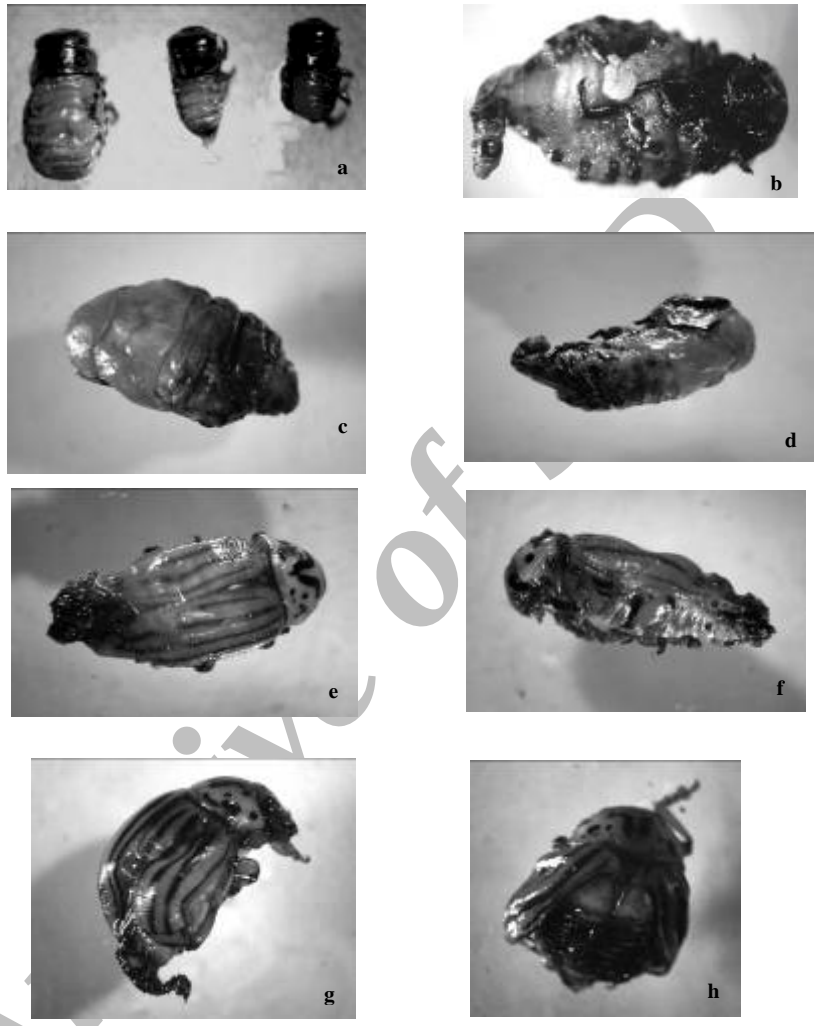


شکل ۲- a) لارو سوسک برگخوار سیب‌زمینی (شاهد)؛ b) تغییرات مرفولوژیکی ایجاد شده در لاروهای تیمار شده با پریکوسن-I؛ c) شفیره سوسک برگخوار سیب‌زمینی (شاهد)؛ d) شفیره حاصل از لاروهای تیمارشده با پریکوسن-I؛ e) حشره کامل سوسک برگخوار سیب زمینی (شاهد)؛ g-h) تغییرات مورفولوژیکی ایجاد شده در حشرات کامل حاصل از لاروهای تیمار شده با پریکوسن-I .

Fig. 2- a) CPB larva (Control); b) CPB larva treated with Precocene-I; c) CPB pupa (control); d) CPB pupa from larvae treated with Precocene-I; g) CPB imago (Control); f-h) CPB imago from larvae treated with Precocene-I .

Archive of SID

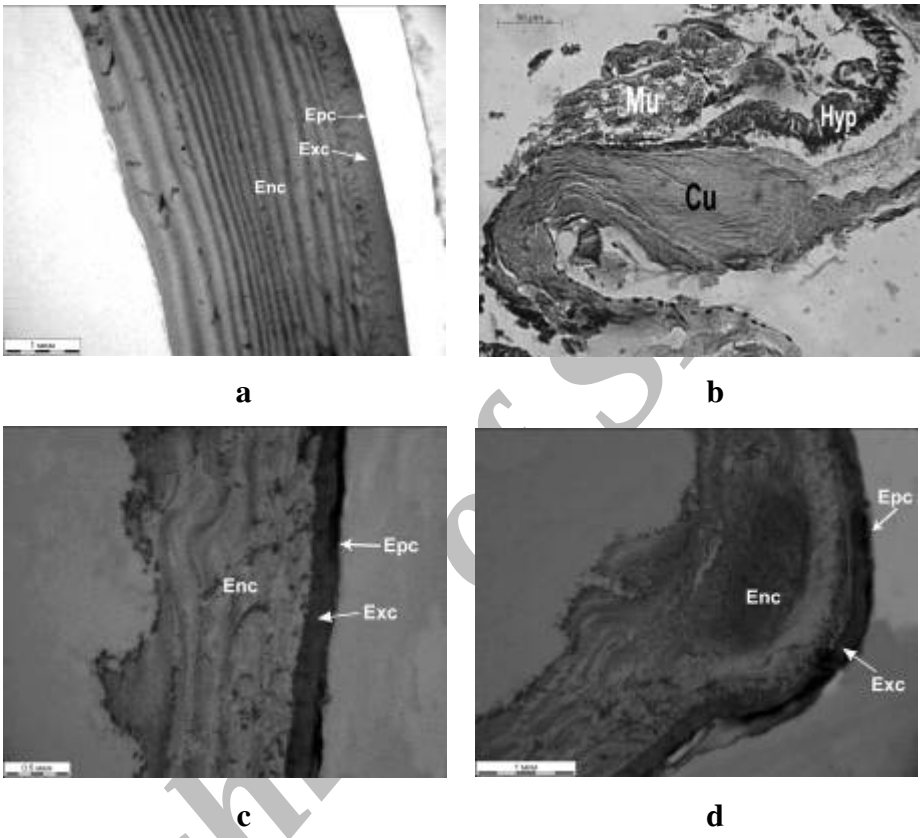
www.SID.ir



شکل ۳– a-b) تغییرات مورفولوژیکی ایجاد شده در لاروهای تیمار شده با پریکوسن–II؛ c–d) شفیره حاصل از لاروهای تیمار شده با پریکوسن–II؛ e–h) تغییرات مرفولوژیکی ایجاد شده در حشرات کامل حاصل از لاروهای تیمار شده با پریکوسن–II .

Fig. 3- a-b) CPB larva treated with Precocene-II; c-d) CPB pupae from larvae treated with Precocene-II; c-d) CPB imagos from larvae treated with Precocene-II .

www.SID.ir



شکل ۴– a) برش عرضی جلد بدن لارو سوسک برگخوار سیب زمینی (شاهد)؛ b) برش عرضی جلد بدن لارو تیمار شده با پریکوسن–I؛ c–d) برش عرضی بدن لارو تیمار شده با پریکوسن–I

Fig. 4- a: TEM cross-section of CPB larvl cuticule (control); b: Cross-section of CPB larvl cuticule treated with Precocene-I; c-d: TEM cross-section of CPB Larvl cuticule treated with Precocene-II. (*Cu*: Cuticule, *Enc*: Endocuticule, *Epu*: Epicuticule, *Exo*: Exocuticule, *Hyp*: Hypoderm, *Mu*: Muscle).

Archive of SID

www.SID.ir

علاوه بر این سرعت متابولیسم پریکوسن در اجسام چربی حشرات با دگردیسی کامل نسبت به حشرات با دگردیسی ناقص، ده‌ها برابر بیشتر است و به عنوان مثال این سرعت در اجسام چربی *Heliothis zea* Boddie ۳۷ بار شدیدتر از سن *Oncopeltus fasciatus* Dallas است (Bradley & Bowers, 1992; Binder & Bowers, 1992; Bowers, 1983). بنابر این نظریه، اثر اختصاصی پریکوسن‌ها روی گونه‌ها بستگی به فعالیت متابولیکی اجسام آلاتا، که در راسته‌های مختلف حشرات متفاوت است، دارد. در نتیجه پریکوسن در حشرات راسته‌های بالپولکداران، سخت بالپوشان و دوبالان دگردیسی زودرس ایجاد نمی‌کند.

اما چشم‌انداز کاربرد پریکوسن در ارتباط با تأثیر این ترکیبات روی اندام و نیز رفتار تولیدمثلی و بدنبال آن کاهش زادآوری و در برخی موارد عقیم کنندگی حشرات هدف است (Hodkova & Socha, 1982). همچنین از نقطه نظر مبارزه با آفات، امکان جابجایی زمانی دوره تخمگذاری تحت تأثیر پریکوسن اهمیت بسزائی دارد و این امر می‌تواند موجب کاهش جمعیت آفت گردد (Samaranayaka-Ramasamy & Chaudhury, 1982). علاوه بر این پریکوسن به دلیل اختلال در ارتباطات شیمیایی، روی واکنش‌های رفتاری و فعالیت مهاجرتی حشرات نیز تأثیر می‌گذارد (Bowers *et al*., 1976; Dorn, 1982; Polivanova, 1982). قابلیت مهم دیگر تأثیر پریکوسن‌ها روی حشرات، شامل اثر سمیت روی سنین لاروی است که در این تحقیق نیز حساسیت بالای لاروهای جوان سوسک برگخوار سیب‌زمینی به پریکوسن‌ها نشان داده شد.

نشانی نگارندگان: دکتر حسین فرازمند، بخش تحقیقات حشره‌شناسی کشاورزی، مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، صندوق پستی ۱۴۵۴، تهران ۱۹۳۹۵، ایران؛ دکتر استانیسلاو یورویچ چایکا، گروه حشره‌شناسی، دانشکده بیولوژی، دانشگاه دولتی مسکو، مسکو ۱۱۹۸۹۹، روسیه.

Archive of SID

www.SID.ir