دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اراک
شاپا ٤٦٦٨-٢٠٠٨
http://jer.entomology.ir

فصلنامه تخصصی تحقیقات حشره‌شناسی
جلد ۱، شماره ۲، سال ۱۳۸۸، (۱۰۹-۱۱۸)

بررسی تاثیر ترکیبات تنظیم‌کننده رشد حشرات روی دستگاه گوارش لارو سوسک برگ‌خوار سیب‌زمینی، *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Col., Chrysomelidae)

*حسین فرازمند**

موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، تهران

چکیده

سوسک برگ‌خوار سیب‌زمینی، *Leptinotarsa decemlineata* (Say)، از مهم‌ترین آفات سیب‌زمینی در کشورهای تولید کننده این محصول می‌باشد. با توجه به مشکلات ایجاد شده در ارتباط با افزایش مقاومت این حشره به تعدادی از آفت‌کش‌ها، مطالعه تاثیر تعداد سه ترکیب تنظیم‌کننده رشد حشرات شامل دیفلوبنزورون، پریکوسن-I و پریکوسن-II روی دستگاه گوارش لارو سوسک برگ‌خوار سیب‌زمینی به دو روش گوارشی و موضعی بررسی گردید. بر اساس نتایج به‌دست آمده، در لاروهای تیمارشده با دیفلوبنزورون، مهارکننده سنتز کیتین، ساختار کوتیکولی بخش‌های جلویی و عقبی دستگاه گوارش دچار تغییر شده که این تغییرات بیشتر به‌صورت ایجاد حفره بین لایه‌های کوتیکول درونی بود. بیشترین تغییرات در بخش میانی دستگاه گوارش، در سلول‌های پوششی مشاهده گردید، به‌طوری‌که این سلول‌ها قابلیت ساختمانی و کارایی خود را از دست داده و تحلیل می‌روند. در لاروهای تیمارشده با پریکوسن-I و II، مهارکننده‌های هورمون جوانی، بیشترین تغییرات در بخش میانی دستگاه گوارش مشاهده شد که شامل تغییرات شدید در سلول‌های پوششی، ایجاد فاصله بین سلول‌های پوششی و غشای پایه و از بین رفتن انتهای مژک‌های ردیفی سلول‌های پوششی بود. علاوه بر آن مهارکننده‌های هورمون جوانی موجب ایجاد تغییرات ساختمان کوتیکولی در بخش جلویی و عقبی دستگاه گوارش شد. همچنین کاهش رشد و کوچک‌تر شدن اندازه بدن لاروهای تیمار شده با ترکیبات فوق در مقایسه با تیمار شاهد در نتیجه تغییرات ایجاد شده در سلول‌های پوششی دستگاه گوارش و به‌دنبال آن ایجاد اختلال در فرایند هضم و جذب مواد غذایی مشاهده گردید.

واژه‌های کلیدی: سوسک برگ‌خوار سیب‌زمینی، تنظیم‌کننده رشد حشرات، دیفلوبنزورون، پریکوسن، دستگاه گوارش

* نویسنده رابط، پست الکترونیکی *farazmand@entomology.ir*

تاریخ دریافت مقاله (۸۷/۱۱/۲۳) - تاریخ پذیرش مقاله (۸۸/٤/۱۰)

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

سوسک برگ‌خوار سیب‌زمینی[1]، *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Col., Chrysomelidae)، یکی از آفات مخرب سیب‌زمینی و دیگر گیاهان خانواده بادنجانیان است. در طی سالیان اخیر دانشمندان در جستجوی یافتن حشره‌کش‌های بی‌خطری بودند که علاوه بر داشتن اثر انتخابی، مشکل بروز مقاومت نسبت به حشره‌کش‌های شیمیایی را نیز حل کنند.

هورمون‌های اصلی که در فرایند زندگی حشرات به‌کار می‌روند شامل هورمون‌های عصبی[2]، هورمون پوست‌اندازی یا اکدیزون[3] و هورمون جوانی[4] است. در طی دوران لاروی و شفیرگی، هورمون‌های پوست‌اندازی و جوانی مسئول کنترل پوست‌اندازی و دگردیسی هستند. هر گونه دخالت در تعادل این هورمون‌ها با کاربرد شبه هورمون‌ها (تشدیدکننده عمل هورمون) و یا ضدهورمون‌ها موجب تغییر غلظت هورمون‌ها در همولنف حشره شده و این باعث ایجاد اختلال در فیزیولوژی و رشد و نمو حشره می‌شود (Hoffmann & Lorenz, 1998).

دیفلوبنزورون[5] (دیمیلین®) از جمله ترکیبات ضد هورمون پوست‌اندازی است که روی سنتز کیتین و اسکلراتیزاسیون کوتیکول در طی مدت رشد و نمو و تولیدمثل تاثیر می‌کند. لاروهای تیمارشده با دیفلوبنزورون که یک مشتق بنزوئیل فنل است، سبب اتصال نامناسب کوتیکول جدید در طی پوست‌اندازی شده و در نتیجه یک کوتیکول ناقص که فاقد تعدادی از لایه‌های معمولی است، تولید می‌شود. نکته مهم درباره این ترکیب این است که دیمیلین به‌عنوان یک حشره‌کش متداول با طیف وسیع کاربرد روی حشرات اثر می‌کند و باعث تلفات و کاهش جمعیت دشمنان طبیعی آفات نیز می‌شود (Hoffmann & Lorenz, 1998).

پریکوسن‌ها، ترکیبات ضد هورمون جوانی هستند که از گیاه گل ابری، *Ageratum houstonianum* Mill، به‌دست می‌آیند. این ترکیبات دارای اثر سمیت روی اجسام آلاتا بوده و با توقف تولید هورمون‌جوانی، سبب دگردیسی پیش‌رس لارو و نیز عقیمی حشرات کامل می‌شوند (Bowers *et al.*, 1976). به عبارت دیگر پریکوسن در اجسام آلاتای حشرات در مراحل پایانی بیوسنتز هورمون‌جوانی از طریق رقابت با آنزیم‌های اکسیدکننده، سیتوکروم P-450 را مهار کرده و در نتیجه اپوکسید غیرفعال و غیرپایدار پریکوسن تولید می‌شود. درگیری سیتوکروم P-450 در متابولیسم پریکوسن منجر به کاهش بیوسنتز هورمون‌جوانی می‌شود. به‌علاوه اپوکسیدهای پریکوسن اجزاء سلولی اجسام آلاتا را آلکیله کرده و در نهایت سلول‌های این عضو درون‌ریز را از بین می‌برند (Ellis, 1983).

در ارتباط با سوسک برگ‌خوار سیب‌زمینی، تنظیم کننده‌های رشدی مختلفی از جمله آنالوگ‌های هورمون‌جوانی، مهارکننده‌های هورمون پوست‌اندازی و تعدادی دیگر از این گروه ترکیبات برعلیه این آفت استفاده شده‌اند. کاربرد ترکیباتی مانند تریفلومورون[6]، تفلوبنزورون[7] و دیفلوبنزرون باعث کاهش جمعیت سوسک برگ‌خوار سیب‌زمینی در مزارع سیب‌زمینی به میزان ۸۲–۹۴٪ گردید (Chorni, 2004). پریکوسن‌ها و ترکیبات مصنوعی مخصوصا ۲و۲–دی‌متیل‌کرومن[8] اثرات سمی روی لاروهای سوسک برگ‌خوار سیب‌زمینی نشان دادند (Darvas *et al.*, 1989). تیمار لاروهای سن دوم با پریکوسن–I و II منجر به افزایش طول دوره لاروی و افزایش مرگ و میر شده و علاوه بر آن منجر به تغییر شکل در لارو،

1- Colorado Potato Beetle (CPB)
2- Neurohormones
3- Ecdysteroids
4- Juvenile hormone
5- Diflobenzeron (Dimilin®)
6- Triflumuron (Alsystin®)
7- Teflobenzeron (Nomolt®)
8- 2,2-dimethyl chromene

www.SID.ir

شفیره و حشرات کامل گردیده است. کاهش اندازه، اختلال در تشکیل بندهای بدن، تغییر شکل شدید یا تحلیل کامل بال‌ها و بال‌پوش‌ها، حفظ کوتیکول قدیم و همچنین تشکیل آدولتویید نیز مشاهده شده است (Farazmand & Chaika, 2008). تغذیه لاروهای سن آخر *Heliothis zea* Boddie. با غذای حاوی پریکوسن منجر به صدمات جدی به سلول‌های پوششی دستگاه گوارش گردید (Bradley & Bowers, 1992). با توجه به اهمیت سوسک برگ‌خوار سیب‌زمینی به‌عنوان آفت مهم سیب‌زمینی و نیاز به جستجو برای یک ترکیب مناسب جهت مبارزه با آن از یک سو و عدم مطالعه نحوه تاثیر ترکیبات تنظیم کننده رشد حشرات روی رشد و نمو و به‌ویژه روی سیستم‌های داخلی بدن این آفت از سویی دیگر، در این تحقیق تاثیر سه ترکیب تنظیم کننده رشد، دیفلوبنزورون، پریکوسن-I و II، روی دستگاه گوارش لارو سوسک برگ-خوار سیب‌زمینی مطالعه شد.

مواد و روش‌ها

جهت انجام تحقیق، تخم‌های سوسک برگ‌خوار سیب‌زمینی از مزارع سیب‌زمینی سم‌پاشی نشده جمع‌آوری و تحت شرایط آزمایشگاهی (دمای ۲۵±۱°C، رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد و شرایط نوری ۱۶:۸ [تاریکی:روشنایی]) نگهداری شدند. کلیه آزمایش‌ها روی لاروهای سن چهارم به‌دست آمده از این تخم‌ها انجام شد. بررسی تاثیر ترکیبات تنظیم‌کننده رشد شامل دیفلوبنزورون (دیمیلین۲۵٪) ساخت شرکت Uniroyal، پریکوسن-I (۷-متوکسی-۲و۲-دی متیل-۳-کرومن)[1] و پریکوسن- II (۶و۷-دی متوکسی-۲و۲-دی متیل-۳-کرومن)[2] با درصد خلوص ۹۹٪ ساخت شرکت Aldrich روی لاروها به‌صورت موضعی و گوارشی انجام شد. جهت آزمایش غلظت‌های مورد نیاز دیفلوبنزورون در آب مقطر و پریکوسن در استن تهیه شدند.

پس از تفریخ تخم‌ها، لاروها تا سن چهارم لاروی پرورش داده شده و به‌محض پوست‌اندازی، محلول ترکیبات مورد نظر به روش موضعی و توسط میکروپیپت به‌میزان یک میکرولیتر روی سطح پشتی شکم هر لارو قرار داده شد. میزان ماده موثره قرار داده شده به ازای هر لارو در تیمارهای آزمایش به ترتیب برابر با ۱۰ میکروگرم بود. همچنین در روش گوارشی برگ‌های سیب‌زمینی در محلول تهیه شده به‌مدت ۱۰ ثانیه غوطه‌ور شده و پس از تبخیر حلال، جهت تغذیه در اختیار لاروها قرار گرفتند. لاروهای تیمارشده تا مرحله شفیرگی درون ظروف پرورش، نگهداری شدند. ظروف آزمایش به‌طور روزانه مورد بازدید قرار گرفته و لاروهای مرده و نیز پس از هر پوست‌اندازی تعدادی لارو زنده در محلول گلوتارآلدیید 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 بخش‌های مختلف دستگاه گوارش نمونه‌ها در پارافین قرار گرفته و پس از تهیه برش توسط میکروتوم (ضخامت ۵ میکرون)، به روش هایدنهاین و مالوری (Roskin & Levinoson, 1957) رنگ‌آمیزی و در پایان توسط میکروسکوپ نوری دیجیتالی مورد مطالعه قرار گرفت.

جهت مطالعات میکروسکوپ الکترونی، از نمونه‌های نگهداری شده در محلول گلوتارآلدیید استفاده شد. به همین منظور نمونه‌ها به‌ترتیب به‌مدت ٤ ساعت در بافر فسفات (pH=۷/۳) و ۲ ساعت در تتراکسید اسمیوم[3] ۲٪ قرار گرفتند.

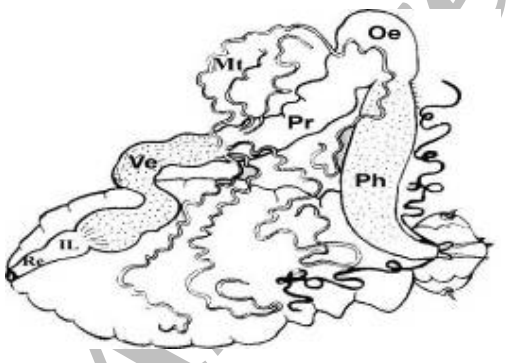
1- 7-methoxy-2, 2-dimethyl chromene
2- 6,7-dimethoxy-2, 2-dimethyl-3-chromene
3- Osmium tetroxide

Archive of SID
www.SID.ir

سپس با غلظت‌های مختلف اتانول (۳۰، ٤٨ و ۷۰ درجه) آب‌گیری و بعد به محلول اورانیل استات در الکل اتیلیک ۷۰ درجه برای مدت ٢٤ ساعت منتقل شدند. مراحل بعدی آب‌گیری با غلظت‌های ٩٦ و ۱۰۰ درجه اتانول و استن خالص انجام شد. سپس نمونه‌ها در درون مخلوط رزین اپن[1] و استن به‌مدت ٢٤ ساعت و بعد در درون رزین اپن در دمای ۳۷ و ٦۰ درجه سلسیوس به ترتیب به‌مدت 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) رنگ‌آمیزی و توسط میکروسکوپ الکترونی TEM[2] مدل JEM-100B مورد مطالعه قرار گرفتند (Miranov *et al.*, 1994).

نتایج و بحث

بررسی دستگاه گوارش در لاروهای سن پنجم سوسک برگ‌خوار سیب‌زمینی (شاهد) نشان داد که دستگاه گوارش لارو دارای ساختمان لوله‌ای بسیار ساده‌ای، فاقد ضمایم پیوستی و به‌طول ۱±۱۹ میلی‌متر بوده و شامل سه بخش جلویی (Foregut)، میانی (Midgut) و عقبی (Hindgut) می‌باشد (شکل ۱). بخش جلویی به‌طول ۰/۵± ٤/۵ میلی‌متر بوده و از حفره دهان آغاز و شامل قسمت‌های گلو (Pharynx)، مری (Oesophagous) و پیش معده (Proventriculus) می‌باشد. در برش عرضی ساختمان این بخش از بیرون به‌درون قسمت‌های مختلف شامل بافت ماهیچه‌ای مخطط حلقوی، ماهیچه مخطط طولی، سلول‌های پوششی[3] و لایه کوتیکولی وجود دارد. سلول‌های پوششی و لایه کوتیکولی در برخی نقاط به‌سمت داخل فرورفتگی ایجاد کرده و سبب ایجاد چین‌هایی می‌شوند.



شکل۱- دستگاه گوارش لارو سوسک برگ‌خوار سیب‌زمینی (*IL*: روده باریک، *Mt*: لوله مالپیگی، *Oe*: مری، *Ph*: گلو، *Pr*: پیش معده، *Re*: راست روده، *Ve*: معده)

Fig. 1- Digestive system of CPB larvae. (*IL*: Ileum, *Mt*: Malpighian tubes, *Oe*: Oesophagous, *Ph*: Pharynx, *Pr*: Provenrtriculus, *Re*: Rectum, *Ve*: Ventriculus)

بخش میانی عریض‌ترین قسمت لوله گوارش لارو سوسک برگ‌خوار سیب‌زمینی بوده و به‌طول حدود ۰/۵± ۵/۵ میلی‌متر می‌باشد. این بخش شامل معده (Ventriculus) است و در برش عرضی ساختمان آن از بیرون به‌درون قسمت‌های مختلف شامل بافت ماهیچه‌ای مخطط طولی، ماهیچه مخطط حلقوی و سلول‌های پوششی وجود دارد. این بخش در سمت درونی فاقد لایه کوتیکولی می‌باشد و در داخل حفره آن بافتی به‌نام پرده دورغذایی (Perithrophic membrane) وجود داشته که مواد غذایی را در بر می‌گیرد. ضخامت دیواره بخش میانی ۵± ۷۵ میکرومتر بوده و سلول‌های پوششی آن به‌شکل استوانه‌ای و با ارتفاع میانگین ۳±۵۰ میکرومتر هستند. هسته سلول‌های پوششی دارای قطری بین ۲/۵±۱۷/۵ میکرومتر

1- Epon 812
2- Transmission Electron Microscopy
3- Epithelium

www.SID.ir

بوده و این سلول‌ها در سطح آزاد خود مجهز به مژک‌های ردیفی (Microvilli) به‌طول ۱±۹ میکرومتر هستند. اغلب سلول‌های پوششی تا غشای پایه (Basement membrane) امتداد یافته و در بین این سلول‌ها، سلول‌های جوانه نیز قرار دارند. علاوه بر این، سلول‌های پوششی در بخش میانی دارای تعداد زیادی فرورفتگی به‌سمت داخل بوده که ضمن ایجاد چین‌خوردگی، سطح جذب مواد غذایی را نیز افزایش می‌دهد.

بخش عقبی طویل‌ترین قسمت لوله گوارش لارو سوسک برگ‌خوار سیب‌زمینی بوده و به‌طول ۰/۵± ۹/۵ میلی‌متر می‌باشد. این بخش از دریچه پیلوروس (Pylorus) آغاز و شامل قسمت‌های روده باریک (Ileum) و راست‌روده (Rectum) است و در محل دریچه پیلوروس ٦ عدد لوله مالپیگی متصل می‌باشد. در برش عرضی ساختمان آن از بیرون به‌درون قسمت‌های مختلف شامل بافت ماهیچه‌ای مخطط طولی، ماهیچه مخطط حلقوی و سلول‌های پوششی و لایه کوتیکولی وجود دارد که از نظر بافت‌شناسی شبیه بخش جلویی و از لحاظ طرز قرارگرفتن ماهیچه‌ها همانند بخش میانی می‌باشد. ضخامت دیواره این بخش بین ۱±۱۱ میکرومتر است. خارجی‌ترین قسمت بخش کوتیکولی، لایه روکوتیکول (Epicuticule) است که دارای ضخامتی در حدود ۰/۱ میکرومتر بوده و سپس لایه پروکوتیکول (Procuticule) که به‌صورت چندین ورقه مشاهده می‌گردد، قرار می‌گیرد. ضخامت لایه پروکوتیکول در نقاط مختلف متغیر بوده و بین ۰/۵±۱/۵ میکرومتر می‌باشد (شکل ٤). در زیر لایه کوتیکول، سلول‌های پوششی قرار دارند. این سلول‌ها به‌شکل پهن با سیتوپلاسم حاوی اندامک‌های مختلف از قبیل میتوکندری، واکوئل و شبکه آندوپلاسمی بوده و هسته این سلول‌ها دارای طول ۰/۵±۵/۵ و عرض ۰/۵±۱/۵ میکرومتر است. سلول‌های پوششی تا غشاء پایه گسترش یافته که ضخامت این غشاء نیز حدود ۰/۵ میکرومتر می‌باشد (شکل‌های ۲، ۳ و ٤).

بر اساس مطالعات انجام شده در لاروهای تیمارشده با غلظت ۱۰ میکروگرم دیفلوبنزورون به‌روش گوارشی، سلول‌های پوششی بخش میانی دستگاه گوارش دارای رشد خوبی بوده و فقط در مواردی صدمات جزیی دیده شد. اما در بیشتر لاروهای تیمارشده در معده، پرده دورغذایی مشاهده نشد و در تعدادی از لاروها نیز این پرده به‌صورت ناقص تشکیل گردیده بود (شکل ۵). در بخش جلویی و عقبی دستگاه گوارش تغییرات شدیدی مشاهده گردید. در سلول‌های پوششی بخش عقبی از صدمه جزیی تا تحلیل کامل سلول مشاهده گردید، به‌طوری‌که فقط ساختمان غشایی این سلول‌ها باقی مانده بود. علاوه بر آن در بیشتر نمونه‌ها، حفره بزرگی بین لایه سلول‌های پوششی و لایه کوتیکول تشکیل گردیده و همچنین تغییرات شدیدی در لایه کوتیکول ایجاد شده بود. بیشترین تغییرات لایه کوتیکول مربوط به لایه کوتیکول درونی (اندوکوتیکول) است که به‌صورت تحلیل تعدادی از ورقه‌های آن مشاهده گردیده و در مواردی نیز تمام قسمت کوتیکول درونی از بین رفته بود (شکل‌های ٦ و ۷). در لایه غشای پایه تغییری مشاهده نشده و فقط بین غشای پایه و سلول‌های پوششی فاصله زیادی تا ۱۰ میکرومتر ایجاد گردیده بود (شکل ۷).

مطالعات انجام شده نشان داد که در لاروهای تیمار شده با غلظت ۱۰ میکروگرم پریکوسن-I به روش موضعی، بیشترین تغییرات در بخش میانی دستگاه گوارش مشاهده شد. این تغییرات شامل ایجاد فضای خالی به‌عرض ٤±٦ میکرومتر در بین سلول‌های پوششی، افزایش فاصله لایه سلول‌های پوششی از غشای پایه بوده که در نتیجه سلول‌های پوششی خاصیت خود را از دست می‌دهند. همچنین پرده دور غذایی در مرکز حفره معده مشاهده شده که در مقایسه با لاروهای تیمارشده با دیفلوبنزورون تغییرات خیلی کمتری را متحمل شدند (شکل ۸). بیشترین تغییرات مشاهده شده در بخش عقبی نیز در سلول‌های پوششی مشاهده شد که شامل ایجاد فاصله به عرض ۱/۵±۳/۵ میکرومتر در بین سلول‌های پوششی و لایه کوتیکولی بوده (شکل‌های ۹ و ۱۰) و در بسیاری از سلول‌های پوششی فقط بخش سیتوپلاسمی آن باقی

Archive of SID
www.SID.ir

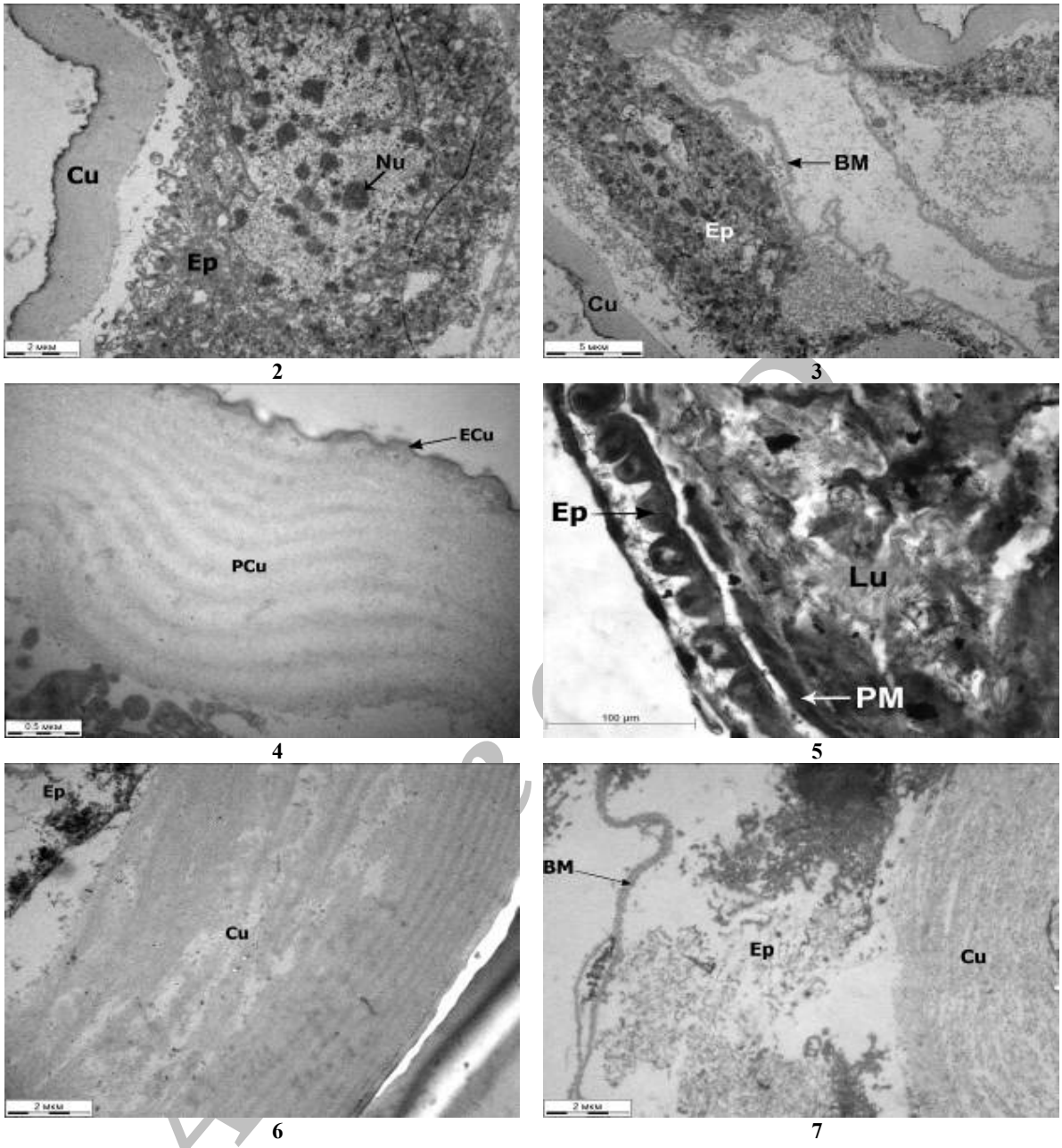
مانده و سایر اجزای آن از بین رفته بودند. همچنین در ساختمان لایه کوتیکولی لوله گوارش لاروهای تیمار شده با پریکوسن-I تغییر چندانی مشاهده نشده و لایه‌های کوتیکول بیرونی و کوتیکول درونی قابل تفکیک بودند (شکل ۱۰).

با بررسی لاروهای تیمار شده با غلظت ۱۰ میکروگرم پریکوسن-II به‌روش موضعی مشخص شد که تغییرات ایجاد شده در لوله گوارش همانند پریکوسن-I می‌باشد. بیشترین تغییرات ایجاد شده توسط پریکوسن-II در بخش میانی دستگاه گوارش مشاهده شد. این تغییرات شامل تغییر شکل سلول‌های پوششی و تحلیل مژک‌های ردیفی بود (شکل ۱۱). تغییرات سلول‌های پوششی بیشتر به‌صورت کاهش اندازه آن‌ها بود که میانگین قطر این سلول‌ها حدود ٤±۱۰ میکرومتر اندازه‌گیری گردید. در بخش عقبی نیز بیشتر سلول‌های پوششی دارای تغییرات شدید بوده و در مواردی تحلیل کامل آن‌ها نیز مشاهده شد، در حالی‌که در لایه کوتیکول تغییری مشاهده نگردید (شکل‌های ۱۲ و ۱۳). علاوه بر این در حفره بخش عقبی دستگاه گوارش بقایای غذای تغذیه شده بدون انجام عمل هضم ملاحظه گردید که نشان دهنده عدم ترشح آنزیم‌های گوارشی توسط سلول‌های پوششی بخش میانی به‌جهت تحلیل این سلول‌ها می‌باشد.

نتایج حاصل از این پژوهش اثر دیفلوبنزورون را در مهار فرایند سنتز کیتین آشکار ساخته، به‌طوری‌که بیشترین تاثیر این ترکیب روی لایه کوتیکولی بخش‌های جلویی و عقبی می‌باشد. دیفلوبنزورون سبب اتصال نامناسب کوتیکول جدید در طی پوست‌اندازی شده و در نتیجه یک کوتیکول ناقص که فاقد تعدادی از لایه‌های کوتیکولی است تولید می‌شود. اطلاعات به‌دست آمده مشخص کرد که دیفلوبنزورون بیشترین تاثیر را روی ساختار کوتیکولی و به‌ویژه لایه کوتیکول درونی به‌صورت تحلیل لایه‌های مختلف و ورقه ورقه شدن آن و ایجاد شکاف داشته و علاوه بر آن، وجود حفره در بین کوتیکول و نیز ایجاد فاصله بین لایه اندوکوتیکول از دیگر علایم تاثیر این ترکیب می‌باشد. همچنین دیفلوبنزورون تغییراتی را نیز در سلول‌های پوششی بخش میانی ایجاد می‌کند که بررسی ساختمان سلول‌های پوششی بخش میانی دستگاه گوارش لاروهای تیمارشده با دیفلوبنزورون اثر سمیت و صدمه پذیری آن را آشکار می‌سازد. نتایج نشان داد که ترکیب دیفلوبنزورون در بخش میانی روی پرده دور غذایی تاثیر زیادی گذاشته که اثر آن به‌صورت تشکیل ناقص این پرده تا تحلیل کامل آن مشاهده گردید.

ترکیبات مهارکننده هورمون‌جوانی، پریکوسن‌ها، بیشترین تغییرات را در بخش میانی ایجاد کرده که شامل باریک شدن سلول‌های پوششی، تحلیل مژک‌های ردیفی، ایجاد فاصله بین سلول‌های پوششی و نیز بین لایه سلول‌های پوششی و غشای پایه می‌باشند. نتایج به‌دست آمده در این پژوهش با تغییرات ایجاد شده روی لارو سن آخر *Heliothis zea* که با رژیم غذایی حاوی پریکوسن تغذیه شده بود مطابقت داشت (Bradley & Bowers, 1992). همچنین تاثیر مستقیم پریکوسن روی سلول‌های پوششی دستگاه گوارش حشرات تغذیه شده با گیاه گل ابری، *A. houstonianum*، که سنتز کننده پریکوسن می‌باشد، مشاهده شده است. بر اساس این تحقیق در دستگاه گوارش شته *Myzodes persicae* Sulz. و مگس سفید *Trialeurodes vaporariorum* Westwood تغذیه شده از گیاه گل ابری، تغییراتی از قبیل کاهش ارتفاع و قطر سلول‌های پوششی، کاهش قطر و شکل هسته این سلول‌ها مشاهده شد (Triseleva, 1995). علاوه بر این در پوره‌های ملخ *Locusta migratoria* L. تغذیه شده از گیاه گل ابری اندازه لوله‌گوارش در مقایسه با پوره‌های شاهد به‌شدت کاهش یافته، ضمن این‌که ارتفاع سلول‌های پوششی و نیز قطر هسته این سلول‌ها کاهش زیادی یافته بود (Polivanova & Triseleva, 1994). مکانیسم تاثیر پریکوسن روی سیستم گوارشی حشرات همانند تاثیر آن‌ها روی بافت اجسام آلاتا می‌باشد (Polivanova, 1984).

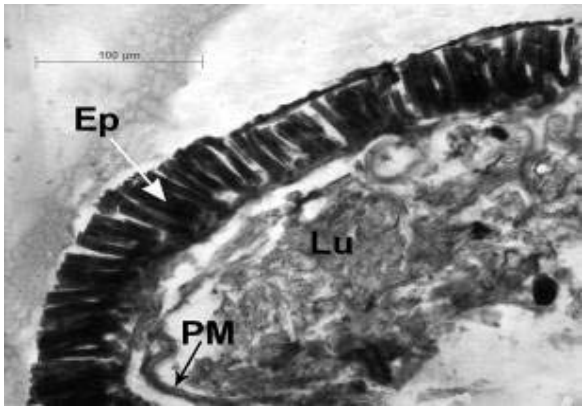
www.SID.ir



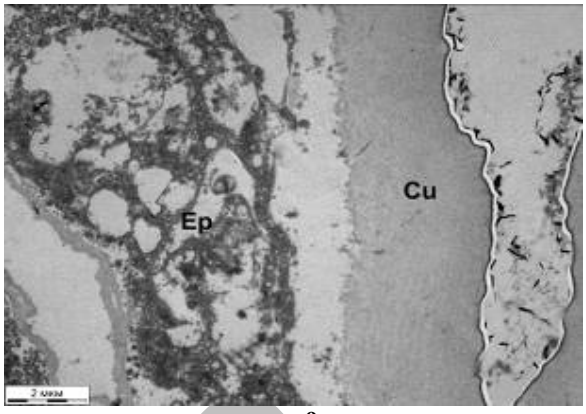
شکل‌های ۲-٤- برش عرضی بخش عقبی دستگاه گوارش لارو سوسک برگ‌خوار سیب‌زمینی (شاهد). شکل۵- برش عرضی بخش میانی دستگاه گوارش لارو سوسک برگ‌خوار سیب‌زمینی تیمار شده با دیفلوبنزورون، شکل‌های ٦-۷- برش عرضی بخش عقبی دستگاه گوارش لارو سوسک برگ‌خوار سیب‌زمینی تیمار شده با دیفلوبنزورون، (*BM*: غشاء پایه، *Cu*: کوتیکول، *ECu*: روکوتیکول، *Ep*: سلول‌های پوششی، *Lu*: حفره گوارشی، *Mu*: ماهیچه، *Nu*: هسته، *PCu*: پروکوتیکول، *PM*: پرده دور غذایی)

Figs. 2-4- TEM micrographs of the hindgut of CPB larvae (control). Fig. 5- TEM micrographs of the digestive system midgut of CPB larvae treated with Diflobenzeron, Figs. 6-7- TEM micrographs of the digestive system hindgut of CPB larvae treated with Diflobenzeron. (*BM*: Basement membrane, *Cu*: Cuticule, *ECu*: Epicuticule, *Ep*: Epithelium, *Lu*: Lumen, *Mu*: Muscle, *Nu*: Nucleus, *PCu*: Procuticule, *PM*: Peritrophic membrane)

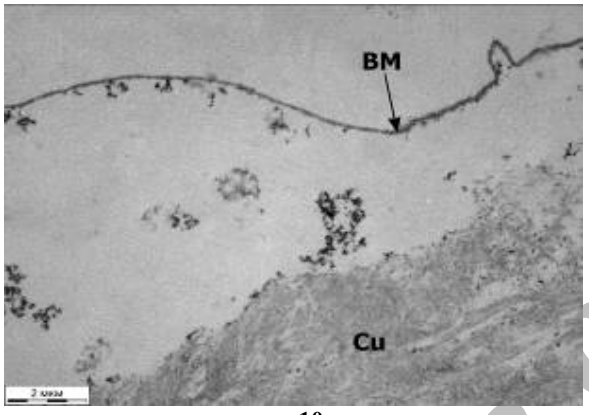
www.SID.ir



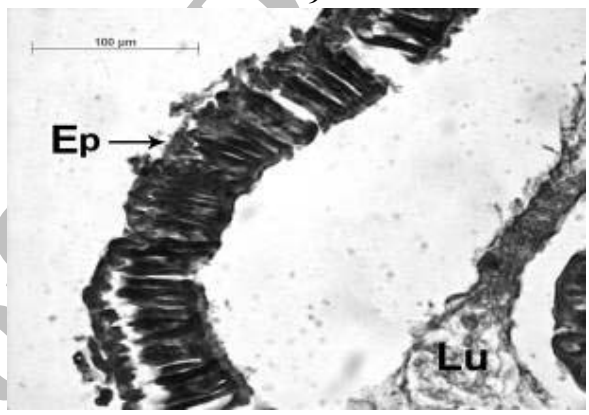
8



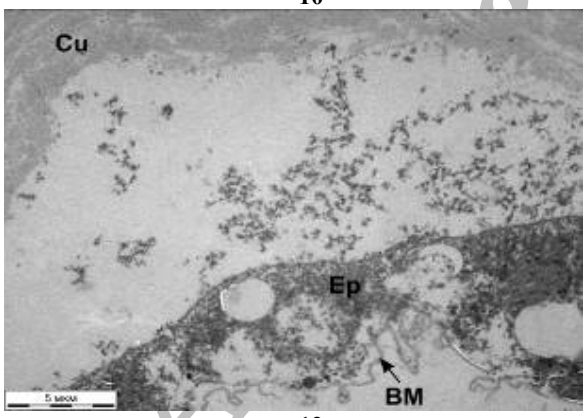
9



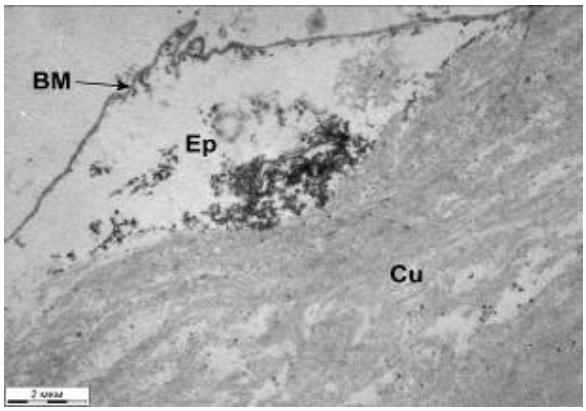
10



11



12



13

شکل ۸- برش عرضی بخش میانی دستگاه گوارش لارو سوسک برگ‌خوار سیب‌زمینی تیمار شده با پریکوسن-I، شکل‌های ۹-۱۰- برش عرضی بخش عقبی دستگاه گوارش لارو سوسک برگ‌خوار سیب‌زمینی تیمار شده با پریکوسن-I، شکل۱۱- برش عرضی بخش میانی دستگاه گوارش لارو سوسک برگ‌خوار سیب‌زمینی تیمار شده با پریکوسن-II، شکل‌های۱۲-۱۳- برش عرضی بخش عقبی دستگاه گوارش لارو سوسک برگ‌خوار سیب زمینی تیمار شده با پریکوسن-II. (*BM*: غشاء پایه، *Cu*: کوتیکول، *Ep*: سلول‌های پوششی، *Lu*: حفره گوارشی، *Mu*: ماهیچه، *PM*: پرده دور غذایی)

Fig. 8- TEM micrographs of the digestive system midgut of CPB larvae treated with Precocene-I, Figs. 9-10- TEM micrographs of the digestive system hindgut of CPB larvae treated with Precocene-I, Fig. 11- TEM micrographs of the digestive system midgut of CPB larvae treated with Precocene-II, Figs. 12-13- TEM micrographs of the digestive system hindgut of CPB larvae treated with Precocene-II. (*BM*: Basement membrane, *Cu*: Cuticule, *Ep*: Epithelium, *Lu*: Lumen, *Mu*: Muscle, *PM*: Peritrophic membrane)

www.SID.ir

با توجه به نتایج مشخص شد که ترکیب دیفلوبنزورون بیشتر روی لایه کوتیکولی بخش‌های جلویی و عقبی و نیز پرده دورغذایی اثر داشته در حالی‌که پریکوسن‌ها بیشتر روی سلول‌های پوششی بخش‌های مختلف دستگاه گوارش تاثیرگذار می‌باشد. در نتیجه این ترکیبات تنظیم‌کننده رشد حشرات با تاثیر روی بافت‌های دستگاه گوارش و عملکرد آن‌ها، موجب اختلال در فرایند هضم و جذب ترکیبات غذایی شده و در نهایت موجب کاهش رشد حشره و کوچک‌تر شدن جثه آن و همچنین در موارد شدیدتر باعث مرگ حشره می‌گردند.

References

Bowers, W. C., Ochta, T., Cleere G. S. and Marsella, P. A. 1976. Discovery of insect anti-juvenile hormones in plants. Science. 193(4253): 542-547.

Bradley, F. B. and Bowers, W. S. 1992. Effects of Precocene II on the nutritional physiology of last instar Heliothis zea larvae. Archives of Insect Biochemistry and Physiology. 19: 237-246.

Chorni, A. M. 2004. Biologically active substances for control of Colorado potato beetle. Thesis abstract. Kiev. Ukrine. 43 pp.

Darvas, B., Timar, L., Varjas, L. and Kulscar, P. 1989. Synthesis of novel 2,2-dimethylchromene derivatives then toxic activity a larvae of *Pieris brassicae* (Lep., Pieridae), *Leptinotarsa decemlineata* (Col., Chrysomelidae). Acta Phytopathologica Academiae Scientiarum Hungaricae. 24: 455-472.

Ellis, P. G. 1983. The mode of action of pro-allatocidins. In Natural Products for Innovative Pest Management, (*eds*.) Whitehead, D. L. & Bowers, W. S. (Pergamon, Oxford). Pp: 323-353.

Farazmand, H. and Chaika, S. Y. 2008. Effect of Precocene-I and II on the development of Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Col., Chrysomelidae). Applied Entomology and Phytopathology. 76(1): 27-43.

Hoffmann, K. H. and Lorenz, M. W. 1998. Recent advances in hormones in insect pest control. Phytoparasitica. 26(4): 1-8.

Miranov, A. A., Komissarchik, Y. Y. and Miranov, V. A. 1994. Electron Microscopical Methods in Biology and Medicine. Nauk Publication Moscow. 399 pp.

Polivanova, E. N. 1984. Physiologically active substances affecting the hormonal balance in insects. Journal of General Biology. 45(1): 36-48.

Polivanova, E. N. and Triseleva, T. A. 1994. Study on digestive system of *Locusta migratoria* L. feeding on Precocene-containing plants. Doklady Akademii Nauk Russia. 338(6): 843-846.

Roskin, G. I. and Levinson, L. B. 1957. Microscopical Technique. Soviet Science, Moscow. 467 pp.

Triseleva, T. A. 1995. On the influence of feeding on different plants on the epithelium of midgut in *Myzodes persicae* and *Trialeurodes vaporariorum*. Zoologicheskii Zhurnal 74(6): 76-82

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Entomological Research
Volume 1, Issue 2, pages: 109-118

Islamic Azad University, Arak Branch
ISSN 2008-4668
http://jer.entomology.ir

Effect of insect growth regulators on digestive system of Colorado potato beetle larvae, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Col., Chrysomelidae)

H. Farazmand*

Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran

Abstract

Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Col., Chrysomelidae) is one of the most important pests of potato in potato-producing countries. Considering the evolution of insecticide resistance in this insect, the effects of three insect growth regulators (IGRs), including Diflobenzeron, Precocene I and Precocene II, on the alimentary canal of *L. decemlineata* larvae were examined. For this purpose, the effect of the mentioned IGRs on the larvae of *L. decemlineata* was tested using oral and topical methods. The results showed abnormalities in cuticular structure of foregut and hindgut of Diflobenzeron-treated larvae, such as formation of gaps between endocuticular layers. Most of the abnormalities happened in epithelium cells of midgut, which caused malfunction and degeneration of such cells. Precocene-treated larvae showed abnormalities in midgut, such as epithelial deformations, formation of gaps between epithelium and basement membrane, and degeneration of microvilli. In addition, Precocenes caused abnormalities in cuticular structure of foregut and hindgut. Finally, IGR-treated larvae appeared smaller and slower in growth compared to control larvae. This is most probably due to the abnormalities of epithelial cells of alimentary canal and the resulted disabilities in digestive and absorptive functions.

Key words: Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*, Insect growth regulator, Diflobenzeron, Precocene, Digestive system

Archive of SID

* Corresponding Author, E-mail: *farazmand@entomology.ir*
Received: 12 February 2009 – Accepted: 1 July 2009

www.SID.ir