مجله علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی ، (JSIAU)
شماره ۶۲/۱ زمستان ۱۳۸۵

واکنشهای رفتاری پشه خاکیهای گونه *Lutzomyia longipalpis* به بوی بدن هامستر طلایی در شرایط آزمایشگاهی

غلامحسن واعظی *
گروه زیست شناسی ، دانشکده علوم پایه، واحد دامغان ، دانشگاه آزاد اسلامی ، دامغان ، ایران
محمد علی عشاقی
گروه گیاهپزشکی ، دانشکده کشاورزی، واحد دامغان ، دانشگاه آزاد اسلامی ، دامغان ، ایران

چکیده

واکنشهای پشه های خاکی بالغ گونه *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) به بوی بدن حیوانات میزبان بکمک تله های چسبان حاوی بوی بدن موشهای هامستر طلایی در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. در یک آزمایش با شرایط انتخاب مساوی، تعداد بسیار زیادی از حشرات ماده و یا نر این گونه در مقایسه با کنترل به تله های چسبان حاوی بوی بدن موشها جذب شدند و در انتهای آزمایش تنها مقدار کمی حشره در محیط آزمایش زنده و آزاد (صید نشده) باقی ماندند. در مقابل، بطور معنی داری پشه های بسیار کمتری از هر دو جنس نر و ماده در آزمایشات موازیی که در آنها از تله های فاقد بوی بدن حیوان استفاده شده بود جذب شدند. تقریباً تعداد نرهای جذب شده در تله های کنترل دو برابر ماده ها بود و این مشاهدات هماهنگی بسیار زیادی با بیولوژی شناخته شده پشه های خاکی دارد که اظهار می دارد پشه های نر اغلب در اطراف بدن حیوانات میزبان و نه در روی خود میزبان به جستجوی پشه های ماده برای جفتگیری می پردازند. نتایج این مطالعه نشان داد که پشه خاکیهای نر و ماده به تنهایی به تله های حاوی بوی بدن حیوانات هامستر طلایی در غیاب هر گونه فاکتور دیگر مانند حضور فیزیکی حیوان و نیز بدون وجود فرمونهای جنسی تراوش شده از جنس مخالف جذب می شوند. از نتایج این مطالعه می توان در طراحی تله های جذاب جهت کنترل حشرات خونخوار و ناقلین بیماریها استفاده نمود.

واژه های کلیدی **: پشه خاکی , واکنش های رفتاری , هامستر طلایی, تله های جذاب, بوی میزبان**

* عهده دار مکاتبات

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه :

پشه خاکیها ناقل اصلی گروهی از بیماریها از جمله لشمانیوزها (سالک و کالا آزار) و تب پاپاتاسی (تب سه روزه) می باشند. لشمانیوزها از بیماریهای مهم انگلی می باشند که در ردیف شش بیماری مهم انگلی مناطق گرمسیری دنیا معرفی شده اند[۱]. در ایران لشمانیوز جلدی روستایی، شهری, و نیز کالا آزار از بیماریهای بومی و بسیار مهم کشور محسوب می شوند و انواع گونه های پشه خاکی ناقل این بیماریها می باشند.

بطور کلی بخاطر مشکلات زیادی که در استقرار و پرورش گونه های مختلف پشه خاکی در آزمایشگاهها وجود دارد جنبه های مختلف بیولوژی بسیاری از گونه های پشه خاکی تا بحال ناشناخته باقی مانده است. در شرایط طبیعی این پشه ها روزها در لانه جوندگان، شکاف کوهها، شیارهای دیوار و اماکن مشابه بسر می برند و فعالیت شبانه دارند. علاوه بر این اندازه بدن آنها نیز کوچک می باشد و بهمین دلیل مطالعه بر روی آنها در شرایط طبیعی بسیار مشکل می باشد.

ترکیبات فرمونی در جذب پشه های نر و ماده به همدیگر نقش مهمی در بیولوژی پشه خاکیها بازی می کنند. معمولاً پشه های ماده از فاصله ای دور به روی بدن حیوانات میزبان و یا اطراف بدن حیوان در اثر وجود ترکیبی از عوامل فرمونی، بوی بدن حیوان، بقایای حیوان از قبیل ادرار، مدفوع، و CO2 باز دم تنفسی حیوان جذب شده و سپس جفتگیری صورت می پذیرد[۲]. مطالعات زیست سنجی بر روی پشه خاکیها نشان داده که پشه خاکیهای ماده به مواد فرمونی منتشر شده توسط حشرات نر جذب می شوند[۳،۴]. مطالعات بعدی همچنین نشان داده اند که بوهای مربوط به یک حیوان زنده درغیاب فرمونهای جنسی برای پشه خاکیها جذاب می باشد[۵]. اما بعضی از ترکیبات بوی بدن میزبان از قبیل بوی ادرار هامستر طلایی برای پشه خاکیها جذاب نمی باشد[۶]. در مطالعه حاضر به توضیح یک سری آزمایشات زیست سنجی (Bioassays) می پردازیم که درطی آن مخلوط بوی بدن هامستر طلایی بصورت موفقیت آمیز از بدن حیوان استحصال شده و آنرا روی ماده جامد جذاب قرار داده و بعنوان یک ماده جذاب وتله در شرایط آزمایشگاهی در غیاب سایر عوامل موثر از قبیل حرارت بدن، CO2 منتشر شده توسط حیوان, و یا هر گونه ترکیب فرمونی استفاده کرده وعکس العمل پشه های نرو ماده :*Lutzomyia* (Diptera Psychodidae) *longipalpalpis* به بوی بدن حیوان مورد بررسی و مطالعه قرار گرفت.

مواد و روشها :

پشه خاکیها : پشه خاکیهای مورد استفاده متعلق به یک کلنی آزمایشگاهی بودند که طبق روش Tesh و Modi[۷] در آزمایشگاه پرورش و نگهداری می شدند. پشه های بالغ جنسی نر و ماده ۵-۲ ساعت پس از خروج از پوسته شفیرگی از همدیگر جدا و در قفس ها ی جداگانه به ابعاد ۲۰ سانتیمتر مربع دارای توریهای نایلونی بسیار ریز نگهداری می شدند. این پشه ها بوسیله پنبه های فشرده آغشته به قند ساکاروز تغذیه شده و در شرایط آزمایشگاهی ۱۲ ساعت نور ۱۲ ساعت تاریکی در ۲۶ درجه سانتیگراد و ۸۰٪ رطوبت نسبی (RH) برای مدت ۷-۴ روز نگهداری شدند.

Archive of SID

www.SID.ir

جمع آوری بوی بدن ها مستر طلایی: جمع آوری بوی بدن حیوان با استفاده از سیستم ارائه شده توسط McCall[۸] که بر اساس روش Turlings et al[۹] طراحی شده بود انجام گردید. هوا در ابتدا از یک فیلتر فعال ذغالی عبور داده شده تا تمیز گردد. هوای تمیز شده سپس از طریق لوله های اتصالی از روی بدن یک هامستر طلایی که در داخل یک محفظه شیشه سربسته ۳ لیتری قرار داده شده بود عبور داده می شد. میزان حجم هوای عبور داده شده ثابت ومعادل یک لیتر در دقیقه بمدت یک ساعت انجام شد. هوای عبور داده شده سپس از یک فیلتر جمع آوری کننده مواد گازی شکل بطول ۴ سانتیمتر بقطر ۴ میلی متر و پر شده از ۲۵ میلی گرم ماده جذاب Super Q با مش 80-100 (شرکت ALLTECH, Deerfield, IL) عبور داده شد.

با استفاده از یک سیستم فشار–مکش (Push–Pull) مجهز به یک پمپ فشار در ابتدای سیستم و یک دستگاه مکش در انتهای سیستم، یک جریان هوا با فشار نسبتاًجزئی مثبت ایجاد شد تا از هر گونه نشت گاز در سیستم جلوگیری شود. به موازات جمع آوری بوی بدن هامستر، یک سیستم بدون وجود هامستر نیز بعنوان کنترل آزمایشات بکار گرفته شد. تیوبهای حاوی مواد جاذب با نوارهای تفلون و ورقه های آلومینیومی بسته بندی و در دمای ۱۵– درجه سانتیگراد تا زمان بررسی های بعدی نگهداری می شدند.

دقیقاً قبل از انجام هر گونه آزمایش زیست سنجی، تیوبهای حاوی مواد جاذب بکمک ۲۰۰ میکرولیتر الکل دی کلرومتان (CH_2Cl_2) شستشو داده شده و ۵۰ میکرولیتر از الکل پس از شستشو بر روی یک کاغذ صافی گرد به قطر ۲ سانتیمتر ریخته شده تا جذب کاغذ شوند.

آزمایشات زیست سنجی (Bioassay) : آزمایشات زیست سنجی در داخل یک قفس با توری بسیار ریز، با چهار چوب فلزی و به ابعاد ۶۰×۶۰×۶۰ سانتیمتر انجام شدند. دو عدد تله چسبان از جنس کاغذ فیلتر به قطر ۹ سانتیمتر که با مایع سیلیکون شماره CS ۲۰۰/۳۰۰ [۱۰] پوشانده شده بودند به فاصله ۴۰ سانتیمتر از همدیگر به سقف قفس بکمک سوزن ته گرد تعبیه شده بودند. در کف قفس درست در زیر هر تله چسبان نصب شده در سقف قفس، یک ظرف پلاستیک (پتری دیش) به قطر ۹ سانتیمتر قرار داده شدند تا چنانچه قطرات سیلیکون مایع از تله ها چکانده شود، کف قفس آلوده به سلیکون نگردد ودر ظرف پلاستیکی جمع آوری گردند. صفحات گرد کاغذ صافی که بوسیله ورقه های آلومینیومی پوشانده شده بودند وحاوی بوی بدن هامستر و یا کنترل (بدست آمده از سیستم کنترل بدون هامستر) بوسیله سوزنهای ته گرد مرکز کاغذ صافی های چسبان نصب شدند. بدین ترتیب در مرکز و روی یکی از کاغذ های چسبان یک کاغذ به قطر ۲ سانتیمتر حاوی بوی بدن هامستر و در فاصله ۴۰ سانتیمتری در مرکز و روی کاغذ چسبان دوم یک کاغذ به قطر ۲ سانتیمتر اما فاقد بوی بدن هامستر (کنترل) قرار داده شدند. سپس ۲۵ عدد پشه ماده جفتگیری نکرده (باکره) ۷–۴ روزه که از ۳۰ – ۱۵ دقیقه قبل به محیط آزمایش آورده شده بودند تا با محیط آزمایش تطابق پیدا کنند را از طریق آستین نصب شده در روی یکی از وجه های قفس (راه ورودی به داخل قفس) به آرامی در ابتدای محل ورودی در قفس رها سازی نمودیم. سپس آستین (محل ورودی قفس) گره زده می شد و چراغهای آزمایشگاه خاموش می شدند. پس از ۱۷ ساعت، دوباره چراغها روشن شده و تعداد پشه های صید شده به وسیله تله های چسبان (شامل پشه های افتاده داخل ظرف پلاستیکی زیر تله ها نیز می شود) شمارش می شدند.

Archive of SID

www.SID.ir

این آزمایشات برای هر دو جنس نر و ماده انجام و هر کدام ۱۰ مرتبه تکرار شدند. در هر تکرار، تله های چسبان حاوی بوی بدن یک هامستر متفاوت از دیگری بود. همه آزمایشات ۴-۳ ساعت قبل از شروع برنامه زمانبندی شده برای شروع زمان تاریکی (طبق برنامه ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) یعنی معادل ۴-۳ ساعت قبل از غروب آفتاب در شرایط طبیعی شروع می شدند.

محل دیسکتهای کاغذی حاوی بوی بدن هامستر وکنترل در هر تکرار تعویض می شدند تا از گرایش (bias) به شرایط محیطی خاص جلوگیری شود. یک سری از آزمایشات شاهد یا کنترل به موازات آزمایشات فوق همزمان انجام می شد و در این آزمایشات در روی هر دو تله چسبان دیسکتهای خاص (کنترل فاقد بوی بدن هامستر) قرار داده می شد.

تجزیه وتحلیل داده ها بکمک روش آنالیز آماری Wilcoxon signed rank و نیز تست Mann-Whitney انجام شد.

نتایج و بحث :

نتایج این مطالعه نشان دادند که بوی های منتشر شده از بدن حیوان میزبان ، که در این آزمایشات بوی بدن هامستر طلایی بود، می تواند بطور موثری هر دو جنس نر و ماده پشه خاکیها را به تله های چسبان در شرایط آزمایشگاهی جذب نماید. در این آزمایشات از نظر آماری بطور معنی داری تعداد بیشتری از پشه های نر و ماده به تله های حاوی بوی بدن هامستر طلایی نسبت به کنترل جذب شدند ($P< 0.001$: روش آماری Wilcoxon signed rank ، جداول ۱و۲)، در حالیکه هیچگونه ترجیحی در آزمایشات کنترل با استفاده از تله ها ی چسبان معمولی فاقد بوی بدن هامستر مشاهده نشد. (جدول ۳).

در قفسهایی که آزمایشات با بوی بدن هامستر انجام شد تعداد ۲۲۱ (۸۸/۴٪) از ماده ها و ۲۳۳ (۹۳/۲ ٪) نرها در روی تله های چسبان (حاوی بوی بدن و کنترل) صید شدند وتنها ۲۱ (۸/۴ ٪) ماده و ۱۷ (۶/۸ ٪) نر در انتهای آزمایش صید نشده و زنده باقی ماندند. برعکس در قفسهایی که آزمایشات کنترل انجام می شد، تله های چسبان کنترل, تعداد کمی حشره صید کرده بودند وبطور کلی تنها ۱۰۴ عدد (۶۹/۴ ٪) ماده و ۱۰۲ عدد (۶۸ ٪) نر (جدول ۳) صید شده بودند که این اعداد از نظر آماری بطور معنی داری کمتر از آزمایشات انجام شده با بوی بدن هامستر طلایی می باشد ($P<0.002$ ، تست آماری Mann-Whitney).

بوهای منتشر شده توسط بدن هامستر طلایی می تواند پشه خاکیهای ماده را از فاصله نزدیکی حتی در صورت وجود فرمونهای جنسی حشره نر و یا یک منبع حرارتی جذب نماید. علاوه بر این صید تعداد بسیار زیادتری از پشه ها در قفس های حاوی بوی بدن هامستر بیان می کند که بوی بدن حیوانات میزبان رفتار جستجو کردن برای منابع غذایی و یا جفتگیری را فعال می نماید. واکنشهای پشه خاکیهای نر و ماده در تمام آزمایشات مشابه همدیگر بودند، این وضعیت نشان می دهد که پشه های نر هم همچنین به خوبی از طریق بوی بدن جذب حیوانات میزبان می شوند. این یافته ها با نتایج بدست آمده در شرایط صحرایی که نشان داد تقریباً جمعیتهای یکسانی از حشرات نر و ماده پشه خاکی را می توان در منازل و سایر امکان استراحت آنها صید نمود مطابقت دارد[۱۱،۱۲،۱۳]. همچنین این

Archive of SID
www.SID.ir

نتایج با نتایج مطالعات آزمایشگاهی که نشان داده هر دوجنس نر و ماده بطور یکسانی به بوی بدن انسان جذب می شوند[۱۴]. هماهنگی دارد.

بهر حال در آزمایشات انجام شده با بوی بدن هامستر طلایی، تعداد نرهای جذب شده به تله های چسبان کنترل تقریباً دو برابر تعداد ماده های صید شده بود (۸۴ عدد نر در مقابل ۴۷ عدد ماده و یا ۳۳/۶ ٪ نر در برابر ۱۸/۸ ٪ماده). این اختلاف از نظر آماری معنی دار بوده $p< 0.05$ ، تست آماری Mann–Whitney). این وضعیت می بایستی منعکس کننده شرایط صحرایی محل زیست پشه خاکیها باشد، معمولاً پشه خاکیهای نر نه تنها روی خود بدن میزبان بلکه در اماکن نزدیک به بدن میزبان محلهایی را برای استراحت انتخاب می کنند. پشه های نر در این محلها برای مدتهای طولانی به انتظار می نشینند تا ماده ها به فرمون جنسی جذاب آنها جواب داده و سپس با آنها جفتگیری می نمایند.

سیستم جمع آوری و جذب بوی بدن حیوانات بکار گرفته شده در این آزمایشات قادر به جذب گاز CO_2 نمی باشد و به احتمال زیاد برای ترکیبات با وزن مولکولی پایین نیز نمی تواند موثر واقع شود. بنابراین نتایج فوق مشخص می کند که جذب پشه خاکیهای ماده و نر به تله های چسبان حاوی بوی بدن حیوان بدون اینکه نیازی به گاز CO_2، ترکیبات فرمونی، سایر ترکیبات شیمیایی جذب کننده، و یا فاکتورهای فیزیکی و بصری باشد امکان پذیر است. علاوه بر این ترکیبات بوی بدن هامستر جذب شده در فیلتر های جذاب در یک فرم در دسترس و آماده برای آزمایشات تجزیه شیمیایی جهت تعیین ترکیبات اصلی و فعال و موثر موجود در مخلوط موجود می باشد. همانطور که مشابه این کار برای مواد جاذب بدن میزبان برای پشه های تسه تسه انجام شده است [۱۵،۱۶]. توصیه می شود در مطالعات بعدی آنالیز شیمیائی ترکیب بوی بدن هامستر و یا سایر میزبانها صورت پذیرد. بدین ترتیب موثرترین ترکیبات جاذب برای حشرات خونخوار شناسایی می گردند و بدنبال آن تله های جاذب موثرتر و بهتری جهت کنترل حشرات خونخوار می توان ارائه نمود تا در نهایت از انتقال بیماریها توسط حشرات جلوگیری شود.

جدول شماره۱: میزان صید پشه خاکیهاي ماده در تلههاي چسبان حاوی بوي بدن هامستر طلایی وکنترل

تعداد ماده‌های صید نشده		تعداد ماده‌های صید شده				تکرار (۸)
مرده	زنده	کنترل		تله چسبان همراه با بوی بدن هامستر طلایی		
		ظرف زیر تله	تله	ظرف زیر تله	تله	
۸ (۳/۲)	۲۱ (۸/۴)	۸ (۳/۲)	۳۹ (۵/۶)	۱۳ (۵/۲)	۱۶۱ (۶۴/۴)	جمع (درصد)
۱±./۰۶	۲±./۱۸	۱±./۰۶	۴±./۳	۱±./۱۳	**۱۶±./۳۶	± میـــانگین انحراف معیار

Archive of SID

www.SID.ir

جدول شماره ۲: میزان صید پشه خاکیهاي نر در تله‌هاي چسبان حاوی بوي بدن هامسترطلایی و کنترل

تعداد نر های صید نشده		تعداد نرهای صید شده				تکرار (۸)
مرده	زنده	کنترل		تله چسبان همراه با بوی بدن هامستر طلایی		
		ظرف زیر تله	تله	ظرف زیر تله	تله	
۰	۱۷ (۶/۸)	۸ (۳/۲)	۷۶ (۳۰/۴)	۵ (۲)	۱۴۴ (۵۷/۶)	جمع (درصد)
۰	۲±./۰۹	۱±./۰۴	۸±./۱۸	۱±./۰۷	۱۴±./۱۴ **	± میـــانگین انحراف معیار

جدول شماره ۳: میزان صید پشه خاکیهای نر و ماده بوسیله تله‌های چسبان فاقد بوی بدن هامستر طلایی

تعداد ماده‌های صید نشده		تعداد ماده‌های صید شده		تکرار (۶)	
مرده	زنده	تله چسبان فاقد بوی بدن هامستر طلایی شماره ۲	تله چسبان فاقد بوی بدن هامستر طلایی شماره ۱		
۰	۴۶ (۳۰/۶) ۴۸(۳۲/۰)	۵۱(۳۴/۱) ۵۴(۳۶/۰)	۵۳(۳۵/۳) ۴۸(۳۲/۰)	ماده نر	جمع (درصد)
۰	۸±./۲۳ ۸±./۳۸	۸±./۲۷ ۹±./۲۱	۹±./۲۵ ۸±./۳۰	ماده نر	± میانگین انحـــراف معیار

Archive of SID

www.SID.ir

References:

1- *Who, The Leishmaniasis and Leishmania/HIV co-infections. W.H.O. Fact sheet*, **116** (2000).
2- Ward, R. D., Morton, I. E., Brazil, R. P., Trumper, S. and Facao, A. L., Memorias do Instituto Osmaldo Cruz, **85**, 445 (1990).
3- Ward, R. D., Morton, I. E., Laneasrer, V., Smith, P. A. and Swift, A., *The Current Status and New strategies for control*, Nato ASI Series 163, ed. Hart, D.T., 239, New York: Springer Verlag (1989).
4- Morton, I. E and Ward, R. D., *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **84**, 429 (1989a).
5- Morton, I. E. and Ward, R. D., *Medical and Veterinary Entomology*, **3**, 219 (1989b).
6- Nigam, Y. and Ward, R. D., *Physiological Enomology*, **16**, 305 (1991).
7- Modi, G.B. and Tesh, R. B., *Journal of Medical Entomology*, **20**, 535 (1983).
8- McCall, P. J., *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **88**, 281 (1994) .
9- Turlings, T. C. J., Tumlinson, J. H., Heath, R. R., Proveaux, A. T. and Doolrrtle, R. E., *Journal of Chemical Ecology*, **17**, 2235 (1991)
10- Morton, I.E. and Ward, R. D., *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*. **84**, 49 (1990) .
11- Deane, L. M.., *Servico Nacional de Educacao Sanitaria* (1956).
12- Lainson, R., Dye, C., Shaw, J. J., Macdonald, D. W., Courtenay, O., Adelson, A. A. S. and Silveria, F. T., *Memorias do Instituto Osmaldo Cruz*, **85**, 135 (1990) .
13- Sherlock, I. A. and Guitton, N., *Reuista Brasileira de Malariologiae Doeucas Tropicales*, **21**, 541 (1969).
14- Hamilton, J. G. C. and Ramsoondar, T. M. C., Medical and Veterinary Entomology, **8**, 375 (1994).
15- Hall, D. R., Beevor, P. S., Cork, A., Nesbitt, B. F. and Vale, G. A., *Insect Science and its Application*, **5**, 335 (1984).
16- Hassanali, A., McDowell, P. G., Owaga, M. L. A. and Saini, R. K., *Insect Science and Its Application*, **7**, 5 (1986).

Archive of SID

www.SID.ir