

تاثیر اسپیرودیكلوفن بر برخی از پارامترهای بیوشیمیایی در سوسک کلرادوی سیب‌زمینی *Leptinotarsa decemlineata*

کبری فتوحی^۱✉، مرتضی موحدی فاضل^۲ و اورنگ کاوسی^۲

۱- دانش آموخته حشره‌شناسی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان؛ ۲- استادیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان
(تاریخ دریافت: مهر ۱۳۹۲؛ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۳)

چکیده

سوسک برگ‌خوار سیب‌زمینی، یکی از مهم‌ترین آفات سیب‌زمینی است. در این تحقیق، اثر غلظت‌های زیرکشنده آفت‌کش اسپیرودیكلوفن (240 SC) به عنوان عامل مهارکننده بیوستز چربی‌ها، بر میزان ذخایر چربی، کربوهیدرات و پروتئین در شرایط مزرعه‌ای بررسی شد. آزمایشات به صورت آزمون فاکتوریل چهار متغیره شامل غلظت آفت‌کش (۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میکرو لیتر در لیتر)، جنسیت (نر و ماده)، زمان نمونه‌برداری (۳، ۶ و ۱۲ روز پس از سمپاشی) و تکرار سمپاشی (یک هفته پس از سمپاشی اول)، در چهار تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا گردید. میزان قند، گلیکوژن، چربی و پروتئین موجود بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر بدن حشره تعیین گردید. نتایج نشان داد که ترکیب اسپیرودیكلوفن تاثیر معنی‌داری بر میزان چربی، گلیکوژن، قند، پروتئین و محتوای انرژی (P<۰/۰۰۱) دارد و از بین غلظت‌های مذکور، غلظت ۴۰۰ μl/l در ششمین روز بعد از دومین سمپاشی بیشترین تاثیر کاهش را بر منابع انرژی داشته است، به طوری که در این غلظت میزان چربی ۵۷/۴۵، گلیکوژن ۷۶/۳۸، قند ۷۲/۲۱، پروتئین ۱۱/۲۹ و محتوای انرژی ۵۷/۸۶ درصد پس از کسر مقادیر متناظر در شاهد کاهش یافته است. کاهش بیش از نیمی از محتوای انرژی می‌تواند بیانگر تاثیرات مزمن آفت‌کش اسپیرودیكلوفن در کاهش میزان بقاء این آفت باشد.

واژه‌های کلیدی: سوسک برگ‌خوار سیب‌زمینی، اسپیرودیكلوفن، منابع انرژی، چربی، کربوهیدرات، پروتئین.

Effect of spirodiclofen on some biochemical parameters in Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata*

K. FOTOUHI¹✉, M. MOVAHEDI FAZEL² and A. KAVOUSHI²

1- MS graduate of Entomology, Faculty of Agriculture, Zanjan University, Zanjan; 2- Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Zanjan University, Zanjan

Abstract

The Colorado potato beetle (CPB) is the most important pest of potato. In this research, effects of sublethal concentrations of spirodiclofen 240 SC were studied on lipid, carbohydrate and protein contents in CPB adults under field conditions. The experiments had a complete randomized four-factor factorial design. The four factors were the spirodiclofen concentration (0, 200, 300 and 400 μl/l), sex (male and female), time (3, 6 and 12 day) and number of treatment (first and second). The sugar, glycogen and lipid quantities were determined in milligram per gram of fresh weight. Results showed that spirodiclofen affected significantly total lipid, glycogen, sugar, protein and energy content (p<0.001). The most reductions in bioenergetic resources were observed in adults retreated with the concentration of 400 μl/l six days after spraying. After taking into account the control, 57.45%, 76.38%, 72.21%, 11.29% and 57.86% reduction were found in lipid, glycogen, sugar, protein and energy content, respectively. Considerable reduction in energy content indicated that chronic effects of spirodiclofen can reducing survivorship in overwintering adults of CPB.

Key words: Colorado potato beetle, Spirodiclofen, Bioenergetic Resources, Lipids, Carbohydrates, Proteins.

مقدمه

به صورت تغییر در میزان باروری، رشد و نمو، تغییر در نسبت جنسی، دیاپوز، مورفولوژی و فیزیولوژی حشرات بروز می‌دهند (Takada et al., 2001; Willrich and Boethel, 2001; Krishna et al., 2007). یکی از آثار تغذیه‌ای و فیزیولوژیکی غلظت‌های پایین برخی از سموم شیمیایی، تاثیر بر میزان استفاده از منابع غذایی و نیز ذخیره‌سازی کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و چربی‌ها می‌باشد (Saleem et al., 1998). بین مقدار ذخیره چربی و زنده‌مانی حشرات زمستان‌گذران رابطه مستقیم وجود دارد (Ito and Nakata, 1998) منابع انرژی غیر چربی نیز در دوره دیاپوز اهمیت دارند (Hahn and Denlinger, 2007). تحقیقات انجام شده روی سوسک کلرادو نشان داده است که غلظت‌های زیرکشنده ترکیب نیم‌آزال تاثیر کاهشی بر منابع انرژی داشته است (Fotouhi et al., 2012). منابع انرژی علاوه بر تاثیر مستقیم در زنده‌مانی طی دوره دیاپوز، روی ویژگی‌های زیستی پس از دیاپوز نیز موثر می‌باشند (Hahn and Denlinger, 2007). بر این اساس و با توجه به حساسیت بالای گیاه سیب‌زمینی نسبت به تغذیه سوسک کلرادو خصوصاً در مراحل اولیه رشد و شکوفه‌دهی، مدیریت حشرات کامل زمستان‌گذران در به حداقل رساندن میزان خسارت بسیار حائز اهمیت می‌باشد (Shields and Wyman, 1984). اسپیرودیکلوفن، ترکیبی غیرسیستمیک و تماسی از گروه تترونیک اسید با تاثیر کنه‌کشی و حشره‌کشی است (Ke et al., 2010). این ترکیب سبب ایجاد اختلال در رشد و نمو کنه‌ها شده و از سنتز چربی‌ها ممانعت می‌کند (Liu et al., 2011). تحقیق حاضر در نظر دارد امکان ایجاد اختلال در مقدار طبیعی منابع انرژی سوسک کلرادو را با استفاده از غلظت‌های زیرکشنده این آفت‌کش مورد بررسی قرار دهد.

روش بررسی

نمونه‌برداری: لاروهای سن ۴ نسل دوم سوسک کلرادو در تابستان سال ۹۰ از مزارع سیب‌زمینی شهر زنجان جمع‌آوری و تا زمان ظهور حشرات کامل، روی بوته‌های سیب‌زمینی محافظت

سوسک برگ‌خوار سیب‌زمینی، *Leptinotarsa decemlineata* (Col.: Chrysomelidae) Say یکی از مهم‌ترین آفات سیب‌زمینی می‌باشد. تغذیه از برگ‌ها توسط حشرات کامل زمستان‌گذران، حشرات کامل تابستانه و لاروها خسارت جدی و شدیدی را به گیاه سیب‌زمینی وارد می‌سازد تا حدی که گاهی گیاه قادر به تولید غده نمی‌شود (Hare, 1990). در شرایط آب و هوایی زنجان، حشرات کامل سوسک کلرادو در اواخر شهریور ماه وارد دیاپوز شده و در بهار سال بعد از خاک خارج می‌شوند. به این ترتیب تحمل دماهای پایین و نیز عدم دسترسی به میزبان گیاهی در فصل زمستان را از طریق ذخیره منابع غذایی طی فصل رشد جبران می‌نمایند. به طور کلی در حشرات قبل از مرحله دیاپوز، محتوای چربی، کربوهیدرات و پروتئین کل افزایش می‌یابد (Lefever et al., 1989). همواره یک ارتباط متابولیکی بین وزن بدن حشره و اندوخته غذایی آن وجود دارد که تعیین کننده منابع انرژی و تضمین کننده بقا حشره می‌باشد (Briegel et al., 2001). به طوری که میزان بقا حشرات در زمستان (Bosch and Kemp, 2004)، باروری بیشتر (Berger et al., 2008) و تحمل گرسنگی (Chippendale et al., 1996) در آنها متناسب با مقادیر ذخایر انرژی و مرتبط با اندازه آنها (Lease and Wolf, 2011) خواهد بود. با توجه به اینکه اغلب حشرات در طول دوره زمستان‌گذرانی تغذیه نمی‌کنند بنابراین برای بقا و نیز فعالیت تولیدمثلی و طی روند دگردیسی بر ذخایر انرژی بدست آمده در فصل رشد متکی هستند (Leather et al., 1995). انرژی‌های ذخیره‌ای در طول دوره زمستان‌گذرانی بتدریج کاهش می‌یابد و این کاهش انرژی طی زمستان می‌تواند تلفات حشرات را به همراه داشته باشد (Hahn and Denlinger, 2007). در بین منابع انرژی، چربی‌ها با دو نقش انرژی ذخیره‌ای و نیز ترکیبات ضدیخ تاثیر قابل توجهی را روی بقا حشرات در طول دوره زمستان‌گذرانی دارند (Buckner et al., 2004). براساس مطالعات انجام شده برخی از حشره‌کش‌ها اثرات زیرکشنده خود را

شده در مزرعه تحقیقاتی منتقل شدند.

زیست‌سنجی: در این تحقیق از ترکیب اسپیرودیكلوفن به عنوان عامل موثر بر منابع چربی استفاده گردید. آزمایشات اولیه‌ای برای تعیین سه غلظت از آفت‌کش با حداکثر ۳۰ درصد تلفات اجرا شد. غلظت‌هایی که حداکثر ۳۰ درصد تلفات را طی مدت ۲۰ روز ایجاد کردند به عنوان غلظت نهایی انتخاب شدند. بر این اساس، غلظت‌های ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میکرولیتر در لیتر بر اساس فرمولاسیون تجاری انتخاب و از آب به عنوان تیمار شاهد استفاده گردید. برای انجام آزمایش اصلی، پس از ظهور حشرات کامل نسل دوم، تعداد ۹۰ عدد حشره کامل نر و ماده هم‌سن دو الی سه روزه که از نظر وزنی نیز مشابه بودند، جهت تیمار با هر غلظت انتخاب شدند. حشرات توسط سمپاش‌های دستی در شرایط آزمایشگاه تیمار شده و بلافاصله روی بوته‌هایی از سیب‌زمینی سمپاشی شده با غلظت‌های مشابه در شرایط مزرعه منتقل گردیدند. همچنین، جهت اطمینان از استقرار سوسک‌ها و نیز جلوگیری از جابجایی‌های بین بوته‌ای، حشرات کامل در درون آستین‌های توری به تعداد حداکثر ۱۵ عدد محصور شدند. جهت بررسی آثار احتمالی آفت‌کش بر منابع انرژی و نیز تاثیر گذر زمان بر این تغییرات، نمونه‌برداری از تیمارهای تعریف شده به فواصل زمانی ۳، ۶ و ۱۲ روز بعد از سمپاشی انجام شد. همچنین جهت بررسی اثرات یادآوری آفت‌کش و نیز اثرات احتمالی تجمع آن روی منابع انرژی، در دسته دوم تیمارها، یک هفته بعد از سمپاشی اول، مجدداً حشرات کامل از روی بوته‌ها جمع‌آوری و در آزمایشگاه با غلظت‌های مشابه مرحله اول تیمار شد و روی بوته‌های تیمار شده با همان غلظت منتقل و با توری محصور گردیدند. فواصل نمونه‌برداری مشابه مرحله اول یعنی ۳، ۶ و ۱۲ روز بعد از سمپاشی انجام شد. تیمار شاهد نیز حاوی ۹۰ عدد حشره نر و ماده تیمار شده با آب مقطر بود که روی بوته‌های تیمار شده با شرایط مشابه منتقل و توسط توری‌ها محصور گردیدند. در زمان نمونه‌برداری، توری‌های حاوی حشرات کامل از مزرعه

جمع‌آوری و حشرات زنده داخل توری‌ها پس از توزین با ترازوی دیجیتال ۰/۰۱g (مدل A&D EK-300i)، به فریزر با دمای ۸۰- درجه سلسیوس منتقل شدند.

تاثیر اسپیرودیكلوفن روی ترکیبات بیوشیمیایی:

حشرات کامل نمونه‌برداری شده در هر تیمار بر حسب نر و ماده تفکیک و برای هر تیمار چهار عدد نر و چهار عدد ماده انتخاب و پس از حذف بال‌پوش‌ها و پاها توزین گردید. هر حشره به مدت حداقل پنج دقیقه توسط هموژنایزر با سرعت ۲۶۰۰ دور در دقیقه و در شرایط دمای پایین هموژنیزه گردید. گلیکوژن، قند و چربی طبق روش Van Handel (Van Handel and Day, 1988) جداسازی شد. چربی توسط واکنشگر وانیلین در طول موج ۵۳۰ نانومتر و قند و گلیکوژن با واکنشگر آنترون در طول موج ۶۲۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (WPAs2000uv/vis) قرائت گردید. میزان پروتئین با استفاده از واکنشگر برادفورد طبق روش Kruger, (1994) تعیین و جذب نوری آن در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت گردید.

همچنین از گلوکز (شرکت مرک)، روغن سویا (تولید داخل) و آلبومین گاوی (شرکت سیگما) به عنوان ماده استاندارد به ترتیب برای کمیت‌سنجی کربوهیدرات، چربی و پروتئین استفاده شد. میزان پروتئین، کربوهیدرات و چربی کل بر حسب mg/g وزن تر حشره محاسبه گردید. محتوای انرژی کل طبق فرمول زیر محاسبه (Judd *et al.*, 2010) و سپس بر وزن حشره (mg) تقسیم گردید (واحد هر کدام از منابع به میلی‌گرم و اعداد ثابت به کالری بر میلی‌گرم می‌باشد).

$$(9/5 \times \text{مقدار چربی}) + (4/2 \times \text{مقدار کربوهیدرات}) +$$

$$(4/19 \times \text{مقدار پروتئین}) = (\text{cal/mg}) \text{ محتوای انرژی}$$

تجزیه آماری: تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از

نرم‌افزارهای آماری استاتیسیتیکس^۱ و مینی‌تیب^۲ انجام شد. آزمایشات به صورت آزمون فاکتوریل چهار متغیره و در چهار

۱-Statistix

۲-Minitab

قند) نیز تحت تاثیر اسپیرودیكلوفن قرار گرفته است ($F_{3,133} \text{ glycogen} = 73.73, P < 0.001$; $F_{3,133} \text{ sugar} = 61.5, P < 0.001$). به طوری که میزان گلیکوژن در غلظت‌های ۳۰۰ و ۴۰۰ $\mu\text{l/l}$ پس از کسر اثر شاهد، به ترتیب به میزان ۳/۵۹ و ۷۶/۳۸ درصد کاهش یافته است اما در غلظت ۲۰۰، ۴۴/۶۷ درصد افزایش نشان داده است. میزان قند نیز در غلظت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرولیتر در لیتر پس از کسر اثر شاهد، به ترتیب به میزان ۲۹/۹۲ و ۷۲/۲۱ درصد کاهش یافت، اما در غلظت ۳۰۰، ۳۰۰ $\mu\text{l/l}$ ۷/۲۵ درصد افزایش نشان داده است. فواصل نمونه‌برداری پس از سمپاشی و تکرار سمپاشی نیز اثرات معنی‌داری را بر میزان کربوهیدرات داشتند (جدول-۱). همچنین اثرات متقابل معنی‌دار از جمله اثرات سه‌گانه فواصل نمونه‌برداری، غلظت و تکرار سمپاشی ($F_{6,133} \text{ glycogen} = 3.74, P < 0.01$; $F_{6,133} \text{ sugar} = 3.06, P < 0.01$)، و اثرات دوگانه غلظت و تکرار سمپاشی بر میزان کربوهیدرات ($F_{3,133} \text{ glycogen} = 4.09, P < 0.01$; $F_{3,133} \text{ sugar} = 4.16, P < 0.01$)، در حشرات تیمار شده با اسپیرودیكلوفن مشاهده گردید. حدود تغییرات کربوهیدرات در تیمارهایی با بیشترین و کمترین میانگین در جدول ۲ ارائه شده است.

تکرار در قالب طرح کامل تصادفی اجرا گردید. میانگین‌ها به روش توکی - کرامر مقایسه گردید.

نتیجه و بحث

نتایج حاصل از این تحقیق بیانگر تاثیر معنی‌دار غلظت‌های مختلف اسپیرودیكلوفن بر منابع چربی بود ($F_{3,133} = 29.1, P < 0.001$) به طوری که در غلظت‌های ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میکرولیتر در لیتر پس از کسر اثر شاهد، به ترتیب به میزان ۲۳/۶۴، ۴۸/۵۶ و ۵۷/۴۵ درصد چربی را کاهش داد. فواصل نمونه‌برداری پس از سمپاشی نیز اثرات معنی‌داری را بر میزان چربی داشت (جدول ۱). همچنین اثرات متقابل معنی‌دار از جمله اثرات سه‌گانه فواصل نمونه‌برداری، غلظت و تکرار سمپاشی ($F_{6,133} = 2.52, P < 0.05$)، اثرات دوگانه فواصل نمونه‌برداری و غلظت ($F_{6,133} = 3.74, P < 0.01$)، فواصل نمونه‌برداری و تکرار سمپاشی ($F_{2,133} = 7.3, P < 0.01$)، غلظت و تکرار سمپاشی ($F_{3,133} = 3.74, P < 0.05$)، تکرار سمپاشی و جنسیت ($F_{1,133} = 7.05, P < 0.01$) بر میزان چربی در حشرات تیمار شده با اسپیرودیكلوفن مشاهده گردید. حدود تغییرات چربی در تیمارهایی با بیشترین و کمترین میانگین در جدول ۲ ارائه شده است. میزان کربوهیدرات (گلیکوژن و

جدول ۱- تاثیر ترکیب اسپیرودیكلوفن بر تغییرات منابع انرژی در حشرات کامل زمستان‌گذران سوسک کلرادو سیبزمینی

Table 1. Effects of spirodiclofen compound on bioenergetic resources variations in adults of Colorado potato beetle

متغیر	سطوح متغیر	میانگین چربی (mg/g)	میانگین گلیکوژن (mg/g)	میانگین قند (mg/g)	میانگین پروتئین (mg/g)	میانگین محتوای انرژی (cal/g)
Source	Source levels	Mean of lipid (mg/g)	Mean of glycogen (mg/g)	Mean of sugar (mg/g)	Mean of protein (mg/g)	Mean of caloric content (cal/g)
جنسیت (Sex)	Female	41.83±2.11 ^{ns}	11.12±0.88 ^{ns}	3.30±0.22 ^b	4.59±0.10 ^b	477.2±20.8 ^{ns}
	male	42.07±2.16 ^{ns}	12.73±0.90 ^{ns}	4.30±0.22 ^a	5.64±0.10 ^a	494.8±21.3 ^{ns}
دفعات سمپاشی	1	40.87±2.27 ^{ns}	13.30±0.95 ^a	4.53±0.24 ^a	5.52±0.11 ^a	486.3±22.39 ^{ns}
	2	43.03±1.99 ^{ns}	10.55±0.83 ^b	3.07±0.21 ^b	4.71±0.09 ^b	485.7±19.63 ^{ns}
Time spraying	3	36.73±2.42 ^b	14.58±1.01 ^a	4.89±0.25 ^a	4.31±0.11 ^c	448.8±23.87 ^b
	6	36.92±2.49 ^b	10.09±1.04 ^b	3.16±0.26 ^b	5.31±0.12 ^b	428.6±24.61 ^b
Fواصل نمونه‌برداری (بعد از سمپاشی، روز)	12	52.20±2.9 ^a	11.12±1.21 ^b	3.35±0.30 ^b	5.72±0.13 ^a	580.6±28.62 ^a
	0	62.07±2.87 ^a	13.08±1.20 ^b	4.98±0.30 ^a	5.43±0.13 ^a	688.2±28.32 ^a
غلظت (μl/l)	200	47.40±3.42 ^b	18.92±1.43 ^a	3.49±0.36 ^b	5.54±0.16 ^a	567.6±33.76 ^b
	300	31.93±2.91 ^c	12.61±1.21 ^b	5.34±0.31 ^a	4.67±0.13 ^b	398.3±28.69 ^c
	400	26.41±2.83 ^c	3.09±0.21 ^c	1.38±0.30 ^c	4.82±0.13 ^b	289.9±27.94 ^d

جدول ۲- میانگین تیمارها با اثرات متقابل معنی‌دار غلظت-فواصل نمونه‌برداری-دفعات سمپاشی، بر منابع انرژی حشرات کامل زمستان‌گذران سوسک کلرادو سیب‌زمینی تیمار شده با ترکیب اسپیرودیكلوفن

Table 2. The means of significant interaction effects of concentration, sampling time intervals, time spraying on energy resources of CPB overwintering adults that were treated with spiroticlofen

منابع انرژی Source of energy	بیشترین میانگین Maximum means	کمترین میانگین Minimum means
چربی (mg/g) Lipid (mg/g)	12 days, Control and first spraying (83.73±6.84)	3 days, 400 µl/l and first spraying (14.25±1.05)
گلیکوژن (mg/g) Glycogen (mg/g)	3 days, 200 µl/l and first spraying (30.4±2.85)	12 days, 400 µl/l and first spraying (1.88±0.16)
قند (mg/g) Sugar (mg/g)	12 days, 300 µl/l and first spraying (8.6±0.88)	12 days, 400 µl/l and first spraying (0.72±0.12)
پروتئین (mg/g) Protein (mg/g)	12 days, 200 µl/l and first spraying (8.66±0.63)	12 days, 300 µl/l and second spraying (3.57±0.32)

میکرولیتر در لیتر پس از کسر اثر شاهد، به ترتیب به میزان ۱۷/۵، ۴۲/۱۵ و ۵۷/۸۶ درصد محتوای انرژی را کاهش داده است.

به طور کلی تأثیر ترکیبات شیمیایی بر تغییرات منابع انرژی در حشرات گیاهخوار را می‌توان تحت تأثیر فعالیت ضدتغذیه‌ای (Kassem *et al.*, 2011)، دخل و تصرف در مراحل مختلف کاتابولیسم و یا آنابولیسم منابع انرژی (Nation, 2002) و یا بصورت غیر مستقیم و از طریق اثرگذاری بر چرخه‌های انرژی میزبان گیاهی (Wilson and Michiels, 2003) دانست. در اغلب تحقیقات انجام شده، مکانیزم عمل سموم شیمیایی بر منابع انرژی کمتر مورد بحث قرار گرفته است و بیشتر به مکانیزم‌های احتمالی اشاره شده است.

تغییرات میزان چربی: چربی‌ها به عنوان منبع مهم انرژی در موجودات از جمله در حشرات محسوب می‌شوند و حشرات آن‌ها را یا از منابع غذایی کسب می‌کنند یا اینکه در درون بدن سنتز می‌کنند. در این تحقیق، ترکیب اسپیرودیكلوفن و غلظت‌های مختلف آن، فواصل نمونه‌برداری، تکرار سمپاشی و اثرات متقابل آن‌ها، اثرات کاهش بر میزان چربی داشته است. نتایج نشان دهنده کاهش میزان چربی توام با افزایش غلظت آفت‌کش است. کاهش

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، بیانگر تأثیر معنی‌دار اسپیرودیكلوفن بر میزان پروتئین می‌باشد ($F_{3,133} = 10.39$, $P < 0.001$). به طوری که میزان پروتئین در غلظت‌های ۳۰۰ و ۴۰۰ میکرولیتر در لیتر پس از کسر اثر شاهد، به ترتیب به میزان ۱۴ و ۱۱/۲۹ درصد کاهش داشته است اما در غلظت ۲۰۰ µl/l، ۲/۱۴ درصد افزایش نشان داد. فواصل نمونه‌برداری ($F_{2,133} = 33.22$, $P < 0.001$ ، تکرار سمپاشی ($F_{1,133} = 26.88$, $P < 0.001$ ، و جنسیت ($F_{1,133} = 50.42$, $P < 0.001$ ، تأثیر معنی‌داری بر میزان پروتئین نیز داشته است (جدول ۱). اثرات متقابل سه‌گانه فواصل نمونه‌برداری، غلظت و تکرار سمپاشی ($F_{6,133} = 3.72$, $P < 0.01$ ، غلظت، تکرار سمپاشی و جنسیت ($F_{3,133} = 2.98$, $P < 0.05$) و اثرات دوگانه فواصل نمونه‌برداری و تکرار سمپاشی ($F_{2,133} = 6.6$, $P < 0.01$ ، غلظت و تکرار سمپاشی ($F_{3,133} = 10.44$, $P < 0.001$ ، تأثیر معنی‌داری را بر میزان پروتئین در حشرات تیمار شده با اسپیرودیكلوفن نشان دادند. حدود تغییرات پروتئین در تیمارهایی با بیشترین و کمترین میانگین در جدول ۲ ارائه شده است.

همچنین اسپیرودیكلوفن در مجموع اثرات کاهش معنی‌داری بر محتوای انرژی داشته است ($F_{3,133} = 41.13$; $P < 0.001$). به طوری که در غلظت‌های ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰

تغییرات میزان کربوهیدرات: کربوهیدرات‌ها یکی از منابع مهم انرژی در بسیاری از حشرات محسوب می‌شوند و میزان آن در همولنف شاخص مهمی از میزان متابولیسم، تعادل پویا از جذب، سوخت و ساز و مصرف توسط بافت‌های مختلف است (Zhu *et al.*, 2012).

افزایش ترکیبات کربوهیدراتی در حشرات مفید و کاهش آن در حشرات آفت نقش مهمی در بقای آن‌ها بویژه طی مرحله زمستان‌گذرانی دارد. در این تحقیق، ترکیب اسپیرودیکلوفن، فواصل نمونه‌برداری، تکرار سمپاشی و اثرات متقابل آن‌ها بر میزان کربوهیدرات اثرگذار بوده است. افزایش میزان کربوهیدرات در برخی از غلظت‌ها نسبت به شاهد را می‌توان طبق گزارش اورتل (Ortel, 1996) به پدیده هورمزیس^۴ نسبت داد که طی آن غلظت‌های پایین سموم ممکن است اثرات مفیدی را روی موجودات زنده نشان دهند. اما کاهش میزان کربوهیدرات نسبت به شاهد ناشی از تنش ایجاد شده در اثر استفاده از حشره‌کش‌ها می‌باشد که طی آن به منظور جبران کمبود انرژی، فرآیند گلیکولیز فعال می‌شود که این امر منجر به کاهش میزان گلیکوژن می‌شود (Ali *et al.*, 2011). همچنین، تنش سبب تغییرات غیرطبیعی در مسیرهای متابولیک و در نتیجه تولید ترکیبات فنلی سمی می‌گردد. موارد مشابه در عالم گیاهی نیز مشاهده شده است به طوری که تنش حاصل از فیتوتوکسین‌ها در شکل یک ترکیب سمی سبب کاهش تقسیم سلولی، گره‌زایی، تنفس، فتوسنتز، اختلال در غشای سلولی و خصوصاً کاهش در مقدار کل کربوهیدرات در گونه‌های مختلف گیاهی می‌شود (Siddiqui and Ahmed, 1999). اثرات کاهشی برخی از سموم خصوصاً سایپرمتترین بر منابع کربوهیدراتی در سایر حشرات نیز گزارش شده است (Saleem *et al.*, 1998; Kalimuthu and Pandian, 2010). همچنین، اثرات کاهشی تنظیم‌کننده‌های رشد روی منابع کربوهیدراتی نیز در گزارشات محققین مختلف مشاهده شده است (Tanani *et al.*, 2012). همان گونه که در بحث مربوط

میزان چربی می‌تواند در اثر فعال‌سازی مسیر متابولیکی جهت تولید انرژی در مواجهه با تنش ایجاد شده در اثر حشره‌کش‌ها رخ دهد (Kalimuthu and Pandian, 2010). همچنین، اختلال در متابولیسم برخی از اسیدهای چرب ممکن است با جلوگیری از فعالیت یک نوع یا گروهی از لیپازها صورت پذیرد (Huang *et al.*, 2012). علاوه بر این ترکیب اسپیرودیکلوفن مهارکننده استیل کوآنزیم آ کربوکسیلاز^۱ (ACCase) می‌باشد که نقش اساسی در متابولیسم چربی بر عهده دارد (Bretschneider *et al.*, 2012). طبق گزارش (Patel *et al.*, 2005) در گونه *Hydropsyche contubernalis* L (Tricoptera) تنش، هورمون‌های آدیپوکائیتیک^۲ فعال می‌گردد که به نوبه خود فعالیت لیپولیز^۳ در اجسام چربی را افزایش می‌دهد. هورمون آدیپوکائیتیک نیز مانند ترکیب اسپیرودیکلوفن منجر به مهار استیل کوآنزیم آ کربوکسیلاز (ACCase) می‌گردد (Lorenz and Anand, 2004). کاهش میزان چربی در اثر کاربرد سموم شیمیایی بخصوص سایپرمتترین روی گونه‌های مختلف توسط سایر محققین نیز گزارش شده است (Saleem *et al.*, 1998; Kalimuthu and Pandian, 2010; Patel *et al.*, 2005). اگر چه بیشترین تاثیر کاهشی توسط سموم از گروه تنظیم‌کننده‌های رشد به خصوص پایی پروکسی فن و فنوکسی کرب بر روی گونه‌های مختلف گزارش شده است (Zibae *et al.*, 2011; Hamadah *et al.*, 2012).

البته در بعضی از گونه‌ها، کاربرد سموم شیمیایی اثرات افزایشی را به دنبال داشته است (Hajsamadi *et al.*, 2012). لازم به ذکر است که کاهش میزان چربی در سوسک کلرادو سیب‌زمینی مانند بعضی از حشرات تیمار شده با سموم شیمیایی، وابسته به غلظت و مدت زمان می‌باشد و این می‌تواند در اثر فعال شدن مسیرهای متابولیکی جایگزین انرژی در سلول‌های چربی حشراتی باشد که تحت تنش سموم قرار گرفته‌اند (Patel *et al.*, 2005).

۱-Acetyl CoA Carboxylase

۲-Adipokinetic

۳-Lypolysis

۴-Hormesis

اختلال ایجاد می‌کنند و بر حسب اطلاعات موجود در سایر گونه‌ها، کاهش ذخایر انرژی احتمالاً روند زمستان‌گذرانی آن‌ها را دچار اختلال نموده و میزان تلفات آن‌ها را دچار تغییر خواهد کرد که البته قطعیت این امر انجام تحقیقات تکمیلی دیگری را می‌طلبد علاوه بر این چون این ترکیب اثر سوئی روی موجودات مفید ندارد، می‌تواند در مدیریت تلفیقی آفات مورد توصیه قرار گیرد (Bretschneider *et al.*, 2012).

References

- ABU-ELHEIGA, L., W. OH, P. KORDARI and S. J. WAKIL, 2003. Acetyl-CoA carboxylase 2 mutant mice are protected against obesity and diabetes induced by high-fat/high-carbohydrate diets. *Biochemistry*. Vol. 100(18): 10207-10212.
- ALI, N. S., S. S. ALI and A. R. SHAKORI, 2011. Effects of Sublethal Doses of Talstar on Biochemical Components of Malathion-Resistant and -Susceptible Adults of *Rhyzopertha dominica*. *Pakistan Journal of Zoology*. Vol. 43(5): 879-887.
- ASSAR, A. A., M. M. ABO EL-MAHASEN, M. E. KHALIL and S. H. MAHMOUD, 2010. Biochemical effects of some insect growth regulators on the house fly, *Musca domestica* (diptera: muscidae). *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences*. Vol. 2(2): 33-44.
- BERGER, D., R. WALTERS and K. GOTTHARD, 2008. What limits insect fecundity? Body size and temperature dependent egg maturation and oviposition in a butterfly. *Functional Ecology*. Vol. 22: 523-529.
- BOSCH, J. and W. P. KEMP, 2004. Effect of pre-wintering and wintering temperature regimes on weight loss, survival, and emergence time in the mason bee *Osmia cornuta* (Hymenoptera: Megachilidae). *Apidologie*. Vol. 35: 469-479.
- BRETSCHNEIDER, T., R. FISCHER and R. NAUEN, 2012. Tetric Acid Insecticides and Acaricides Inhibiting Acetyl-CoA Carboxylase, in *Bioactive Heterocyclic Compound Classes: Agrochemicals* (eds C. Lamberth and J. Dinges), Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany.

به چربی اشاره شد اسپیرودیکلوفن باعث مهار آنزیم Acetyl CoA Carboxylase می‌شود. در موش‌های جهش یافته فاقد ایزومر نوع دوم این آنزیم، نشان داده شده است که مقدار گلیکوژن در بافت‌ها کاهش می‌یابد (Abu-Elheiga *et al.*, 2003).

تغییرات میزان پروتئین: پروتئین‌ها ترکیبات آلی کلیدی هستند که نقش‌های متفاوتی از جمله ساختمانی و آنزیمی دارند و می‌توان انتظار داشت که در مواقع تنش به عنوان یک مکانیسم جبرانی ایفای نقش کنند (Li *et al.*, 2012). در این تحقیق، ترکیب اسپیرودیکلوفن و غلظت‌های مختلف، فواصل نمونه‌برداری، تکرار سمپاشی، جنسیت و اثرات متقابل آن‌ها بر میزان پروتئین اثرگذار بوده است. طبق مطالعات انجام شده، افزایش در میزان پروتئین ممکن است در اثر افزایش طبیعی آنزیم‌های سم‌زدا و هیدرولیتیک محافظ، در مدت زمان کوتاهی بعد از تیمار با حشره‌کش‌ها صورت پذیرد (Assar *et al.*, 2010). از طرفی، کاهش میزان پروتئین در اثر کاربرد سموم شیمیایی می‌تواند به دلیل اتصال این ترکیبات به پروتئین‌های حشره و تشکیل کمپلکس باشد (El-Kordy *et al.*, 1994). همان‌طور که قبلاً اشاره گردید تحت شرایط تنش، هورمون آدیپوکاینیتیک فعال می‌گردد که این هورمون از سنتز پروتئین نیز در حشرات جلوگیری می‌کند (Carlisle and Loughton, 1979).

به طور کلی حشره‌کش‌ها باعث ایجاد اختلال در سنتز پروتئین‌ها می‌شوند (Khan *et al.*, 2003) به طوری که کاربرد آنها روی تعداد قابل توجهی از حشرات باعث کاهش پروتئین کل می‌شود (Saleem *et al.*, 1998; Kalimuthu and Pandian, 2010) همچنین، اثرات کاهش (Zibae *et al.*, 2011)، افزایش (Yi and Adams, 2000) و بی‌تفاوتی (De Kort *et al.*, 1997) تنظیم‌کننده‌های رشد روی منابع پروتئینی گونه‌های مختلف حشرات گزارش شده است.

با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق، به نظر می‌رسد که ترکیباتی مانند اسپیرودیکلوفن در ذخیره‌سازی منابع انرژی در حشرات کامل زمستان‌گذران سوسک کلرادو سیب‌زمینی

- BRIEGEL, H., I. KNUSEL and S. E. TIMMERMANN, 2001. *Aedes aegypti*: size, reserves, survival, and flight potential. *Journal of Vector Ecology*. Vol. 26(1): 21-31.
- BUCKNER, J. S., W. P. KEMP and J. BOSCH, 2004. Characterization of triacylglycerols from overwintering prepupae of the alfalfa pollinator *Megachile rotundata* (Hymenoptera: Megachilidae). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*. Vol. 57: 1-14.
- CARLISLE, J. A. and B. G. LOUGHTON, 1979. Adipokinetic hormone inhibits protein synthesis in LOCUSTA. *Nature*, Vol. 282: 420-421.
- CHIPPENDALE, A. K., T. J. F. CHU and M. R. ROSE, 1996. Complex trade-offs and the evolution of starvation resistance in *Drosophila melanogaster*. *Evolution*. Vol. 50: 753-766.
- DE KORT, C. A. D., A. B. KOOPMANSCHAP and A. M. W. VERMUNT, 1997. Influence of pyriproxyfen on the expression of haemolymph protein genes in the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. *Journal of Insect Physiology*. Vol. 43: 363-371.
- EL-KORDY, M. W., M. G. ABBAS, A. I. GADALLAH and S. A. MOSTAFA, 1994. Effect of Margosan-0 as an azadirachtin compound on some biochemical aspects of *Spodoptera littoralis*. *Al-Azhar Journal of Agricultural Research*. Vol. 20: 329-345.
- FOTOUHI, K., M. MOVAHEDI FAZEL and O. KAVUSI, 2012. Effects of Some Concentration of Neem Azal on lipid and protein changes in adult of Colorado Potato Beetles, *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera.: Chrysomelidae). 2nd International Symposium of Bio-Pesticides and Ecotoxicological Network. 24-26 Sep 2012, Thailand, p. 167-170.
- HAHN, D. A. and D. L. DENLINGER, 2007. Meeting the energetic demands of insect diapause: nutrient storage and utilization. *Journal of Insect Physiology*. Vol. 53: 760-773.
- HAJSAMADI, Z., M. MOVAHEDI FAZEL and O. KAVUSI, 2012. Effects of Some Concentrations of Fenitroton on lipid and protein changes in adults of Sunn pest *Eurygaster integriceps* Put. 2nd International Symposium of Bio-Pesticides and Ecotoxicological Network. 24-26 Sep 2012, Thailand, p. 355-358.
- HAMADAH, KH. SH., K. S. GHONEIM and M. A. TANANI, 2012. Effect of certain insect growth regulators on the lipid content of some tissues of the desert locust *Schistocerca gregaria*. *African Journal of Biochemistry Research*. Vol. 6(9): 121-128.
- HARE, J. D. 1990. Ecology and management of the Colorado potato beetle. *Annual Review of Entomology*. Vol. 35: 81-100.
- HUANG, Z., M. ZHAO and P. SHI, 2012. Sublethal effects of azadirachtin on lipid metabolism and sex pheromone biosynthesis of the Asian corn borer *Ostrinia furnacalis*. *Phytoparasitica*. Vol. 40: 361-368.
- ITO, K. and T. NAKATA, 1998. Diapause and survival in winter in two species of predatory bugs, *Orius sauteri* and *O. minutes*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. Vol. 89: 271-276.
- JUDD, T. M., R. M. MAGNUS and M. P. FASNACHT, 2010. A nutritional profile of the social wasp *Polistes metricus*: Differences in nutrient levels between castes and changes within castes during the annual life cycle. *Journal of Insect Physiology*. Vol. 56: 42-56.
- KALIMUTHU, M. and R. S. PANDIAN, 2010. Toxicological effect of an insecticide that contains organochlorine and pyrethroid on the biochemical constituents of aquatic insect, *Diplonychus rusticus* (Fabr.). *Current Biotica*. Vol. 4(1): 10-22.
- KASSEM, M. A., T. A. MOHAMMAD and A. S. BREEM, 2011. Influence of the bioinsecticides, NeemAzal, on main body metabolites of the 3rd larval instar of the house fly *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). *African Journal of Biochemistry Research*. Vol. 5(9): 272-276.
- KE, S., T. SUN, Z. ZHANG, Y. N. ZHANG, Y. LIANG, K. WANG and Z. YANG, 2010. Spirodiclofen Analogues as Potential Lipid Biosynthesis Inhibitors: A Convenient Synthesis, Biological Evaluation, and Structure-Activity Relationship. *Bulletin of the Korean Chemical Society*. Vol. 31(8): 2315-2321.
- KHAN, M. Z., R. TAKASSUM, S. N. H. NAQUI, E. Z. SHAH, F. TABASSUM, I. AHMAD, F. FATIMA and M. F. KHAN, 2003. Effect of cypermethrin and

- permethrin on cholinesterase activity and protein content in *Rana tigrina* (Amphibia). Turkish Journal of Zoology. Vol. 27: 243-246.
- KRISHNA, T., K. BHASARA REDDY, M. NARST REDDY and G. MARUTHI RAM, 2007. Effect of Fenvalerate, A synthetic pyrethroid on the pupal and adult females of sweet potato weevil, *Cylas formicarius* F (Coleoptera:Curculinidae). Pestology. Vol. 31: 26-29.
- Kruger, N. J. 1994. The Bradford method for protein quantitation. Methods Molecular Biology. Vol. 32: 9-15
- LEASE, H. M. and B. O. WOLF, 2011 . Lipid content of terrestrial arthropods in relation to body size, phylogeny, ontogeny and sex. Physiological Entomology. Vol. 36: 29-38.
- LEATHER, S. R., K. F. A. WALTERS and J. S. BALE, 1995. The Ecology of Insect Overwintering, Cambridge University Press, Cambridge.
- LEFEVER, K. S., A. B. KOOPMANSCHAP and C. A. D. DE KORT, 1989. Changes in the concentrations of metabolites in haemolymph during and after diapauses in female Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. Journal of Insect Physiology. Vol. 35: 121-128.
- LI, B., Y. XIE, Z. CHENG, J. CHENG, R. HU, X. SANG, S. GUI, Q. SUN, X. GONG, Y. CUI, W. SHEN and F. HONG, 2012. Cerium Chloride Improves Protein and Carbohydrate Metabolism of Fifth-Instar Larvae of *Bombyx mori* Under Phoxim Toxicity. Biological Trace Element Research. Vol. 150: 214-220.
- LIU, Z., Q. LEI, Y. LI, L. XIONG, H. SONG and Q. WANG, 2011. Design, Synthesis, Structure, and Acaricidal/ Insecticidal Activity of Novel Spirocyclic Tetrone Acid Derivatives Containing an Oxalyl Moiety. Journal of Agricultural and food Chemistry. Vol. 59: 12543-12549.
- LORENZ, M. and A. N. ANAND, 2004. Changes in the Biochemical Composition of Fat Body Stores During Adult Development of Female Crickets, *Gryllus bimaculatus*. Archives of Insect Biochemistry and Physiology. VOL. 56: 110-119.
- NATION, J. L. 2002. Insect Physiology and Biochemistry. CRC Press, Boca Raton.
- ORTEL, J. 1996. Metal-supplemented diets alter carbohydrate levels in tissue and hemolymph of gypsy moth larvae (*Lymantria dispar*, Lymantriidae, Lepidoptera). Environmental toxicology and chemistry. Vol. 15: 1171-1176.
- PATEL, R. T., J. L. SOULAGES, B. HARIHARA-SUNDARAM and E. L. ARRESE, 2005. Activation of the lipid droplet controls the rate of lipolysis of triglycerides in the insect fat body. The Journal of Biological Chemistry. Vol. 280(24): 22624-22631.
- SALEEM, M. A., A. R. SHAKOORI and D. MANTLE, 1998. Macromolecular and enzymatic abnormalities induced by a synthetic pyrethroid, Ripcord (cypermethrin) in adult beetles of stored grain pests, *Tribolium castaneum* (Herbst.) (Col. Tenebrionidae). Archives of Insect Biochemistry and Physiology. Vol. 39: 144-154.
- SHIELDS, E. J. and J. A. WYMAN, 1984. Effect of defoliation at specific growth stages on potato yields. Journal of Economic Entomology. Vol. 77: 1194-1199.
- SIDDIQUI, Z. S. and S. AHMED, 1999. Effect of Dipterex insecticide on carbohydrate, RNA, DNA and Phenolic contents of *Vigna Radiata* (L) Wilczek and *Vigna Mungo* (L) Hepper. Pakistan Journal of Botany. Vol. 31(1): 93-96.
- TAKADA, Y., S. KAWAMURA and T. TANAKA, 2001. Effect of various insecticides on the development of the egg parasitoid *Trichogramma dendrolimi* (Hymenoptera: trichogrammatidae). Journal of Economic Entomology. Vol. 94: 1340-1343.
- TANANI, M. A., K. S. GHONEIM and KH. SH. HAMADAH, 2012. Comparative effects of certain IGRs on the carbohydrates of hemolymph and fat body of the Desert locust, *Schistocerca gregaria* (Orth:Acrididae). Florida Entomologist. Vol. 95(4): 928-935.
- VAN HANDEL, E. and J. F. DAY, 1988. Assay of lipids, glycogen and sugars in individual mosquitoes: correlations with wing length in field-collected *Aedes*

- vexans*. Journal of American Mosquito Control Association. Vol. 4: 549-550.
- WILLRICH, M. M. and D. J. BOETHEL, 2001. Effect of diflubenzuron on *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera:Noctuidae) and its parasitoid *Copidosoma floridanum* (Hymenoptera: Encyrtidae). Environmental Entomology. Vol. 30: 794-797.
- WILSON, R. G. and A. MICHIELS, 2003. Fall herbicide treatments affect carbohydrate content of Canada thistle (*Cirsium arvense*) and dandelion (*Taraxacum officinale*). Weed Science. Vol. 51: 299-304.
- YI, S. X. and T. S. ADAMS, 2000. Effect of pyriproxyfen and photoperiod on free amino acid concentrations and proteins in the hemolymph of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say). Journal of Insect Physiology. Vol. 46: 1341-1353.
- ZHU, Q., Y. HE, J. YAO, Y. LIU, L. TAO and Q. HUANG, 2012. Effects of sublethal concentrations of the chitin synthesis inhibitor, hexaflumuron, on the development and hemolymph physiology of the cutworm, *Spodoptera litura*. Journal of Insect Science. Vol. 12(27): 1-13.
- ZIBAEI, A., I. ZIBAEI and J. J. SENDI, 2011. A juvenile hormone analog, pyriproxyfen, affects some biochemical components in the hemolymph and fat bodies of *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae). Pesticide Biochemistry and Physiology. Vol. 100: 289-298.