

## بررسی تاثیر ترکیبات تنظیم‌کننده رشد حشرات روی دستگاه گوارش لارو سوسک برگ‌خوار سیب‌زمینی،

### *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Col., Chrysomelidae)

حسین فرازمنند\*

موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، تهران

#### چکیده

سوسک برگ‌خوار سیب‌زمینی، *Leptinotarsa decemlineata* (Say) از مهم‌ترین آفات سیب‌زمینی در کشورهای تولیدکننده 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 تیمار شده با دیفلوبنزورون، مهارکننده سنتز کیتین، ساختار کوتیکولی بخش‌های جلویی و عقبی دستگاه گوارش دچار تغییر شده که این تغییرات بیشتر به صورت ایجاد حفره بین لایه‌های کوتیکول درونی بود. بیشترین تغییرات در بخش میانی دستگاه گوارش، در سلول‌های پوششی مشاهده گردید، به طوری که این سلول‌ها قابلیت ساختمانی و کارایی خود را از دست داده و تحلیل می‌روند. در لاروهای تیمار شده 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 به دنبال 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 (۸۸/۴/۱۰)



## مقدمه

سوسک برگ‌خوار سیب‌زمینی<sup>۱</sup>، *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 به کار می‌روند شامل هورمون‌های عصبی<sup>۲</sup>، هورمون پوست‌اندازی یا اکدیزون<sup>۳</sup> و هورمون جوانی<sup>۴</sup> است. در طی دوران لاروی و شفیرگی، هورمون‌های پوست‌اندازی و جوانی مسئول کنترل پوست‌اندازی و دگرذیسی 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<sup>۵</sup> (دیمیلین<sup>®</sup>) از جمله ترکیبات ضد هورمون پوست‌اندازی است که روی سنتز کیتین و اسکلاترتیزاسیون کوتیکول در طی مدت رشد و نمو و تولیدمثل تاثیر می‌کند. لاروهای تیمار شده 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 به دست می‌آیند. این ترکیبات دارای اثر سمیت روی اجسام آلاتا بوده و با توقف تولید هورمون جوانی، سبب دگرذیسی پیش‌رس لارو و نیز عقیمی حشرات کامل می‌شوند (Bowers et al., 1976). به عبارت دیگر پریکوسن در اجسام آلاتای حشرات در مراحل پایانی بیوستتز هورمون جوانی از طریق رقابت با آنزیم‌های اکسیدکننده، سیتوکروم P-450 را مهار کرده و در نتیجه اپوکسید غیرفعال و غیر پایدار پریکوسن تولید می‌شود. درگیری سیتوکروم P-450 در متابولیسم پریکوسن منجر به کاهش بیوستتز هورمون جوانی می‌شود. به علاوه اپوکسیدهای پریکوسن اجزاء سلولی اجسام آلاتا را آلکیل 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 هورمون جوانی، مهارکننده‌های هورمون پوست‌اندازی و تعدادی دیگر از این گروه ترکیبات بر علیه این آفت استفاده شده‌اند. کاربرد ترکیباتی مانند تریفلوبورون<sup>۶</sup>، تفلوبنزورون<sup>۷</sup> و دیفلوبنزورون باعث کاهش جمعیت سوسک برگ‌خوار سیب‌زمینی در مزارع سیب‌زمینی به میزان ۸۲-۹۴٪ گردید (Chorni, 2004). پریکوسن‌ها و ترکیبات مصنوعی مخصوصاً ۲-۲-دی‌متیل کرومن<sup>۸</sup> 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- Diflubenzeron (Dimilin<sup>®</sup>)  
6- Triflumuron (Alsystin<sup>®</sup>)  
7- Teflubenzeron (Nomolt<sup>®</sup>)  
8- 2,2-dimethyl chromene

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 آدولتوئید 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  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ، رطوبت نسبی  $65 \pm 5$  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 (دیمیلیلین ۲۵٪) ساخت شرکت Uniroyal، پریکوسن-I (۷-متوکسی-۲و۲-دی-متیل-۳-کرومن)<sup>۱</sup> و پریکوسن-II (۶و۷-دی-متوکسی-۲و۲-دی-متیل-۳-کرومن)<sup>۲</sup> 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 تفریح 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 تیمار شده 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 گلو تارآلدیید ۲/۵٪ (جهت مطالعات میکروسکوپ الکترونی) و بوئن (جهت مطالعات بافت شناسی) نگهداری شدند (Roskin & Levinson, 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 & Levinson, 1957) رنگ‌آمیزی و در پایان توسط میکروسکوپ نوری دیجیتالی مورد مطالعه قرار گرفت.

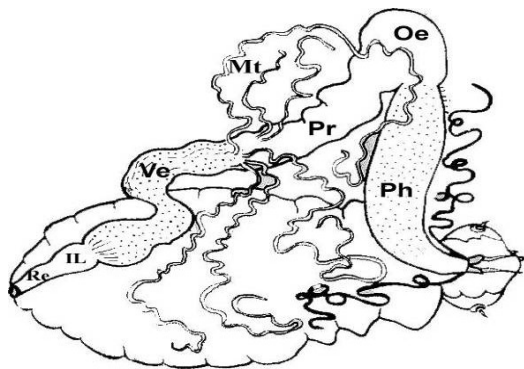
جهت مطالعات میکروسکوپ الکترونی، از نمونه‌های نگهداری شده در محلول گلو تارآلدیید استفاده شد. به همین منظور نمونه‌ها به‌ترتیب به‌مدت ۴ ساعت در بافر فسفات (pH=۷/۳) و ۲ ساعت در تتراسید اسمیموم<sup>۳</sup> ۲٪ قرار گرفتند.

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

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 در درون مخلوط رزین اپن<sup>۱</sup> و استن به مدت ۲۴ ساعت و بعد در درون رزین اپن در دمای ۳۷ و ۶۰ درجه سلسیوس 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 نانگستروم مقطع عرضی تهیه و به روش رینورد (با محلول اورانیل استات ۲٪ در اتانول ۵۰٪ و سیترات سرب) رنگ‌آمیزی و توسط میکروسکوپ الکترونی TEM<sup>۲</sup> 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 به طول  $19 \pm 1$  میلی‌متر بوده و شامل سه بخش جلویی (Foregut)، میانی (Midgut) و عقبی (Hindgut) می‌باشد (شکل ۱). بخش جلویی به طول  $4/5 \pm 0/5$  میلی‌متر بوده و از حفره دهان آغاز و شامل قسمت‌های گلو (Pharynx)، مری (Oesophagus) و پیش‌معه (Proventriculus) می‌باشد. در برش عرضی ساختمان این بخش از بیرون به‌درون قسمت‌های مختلف شامل بافت ماهیچه‌ای منخطط حلقوی، ماهیچه منخطط طولی، سلول‌های پوششی<sup>۳</sup> و لایه کوتیکولی وجود دارد. سلول‌های پوششی و لایه کوتیکولی در برخی نقاط به سمت داخل فرورفتگی ایجاد کرده و سبب ایجاد چین‌هایی می‌شوند.



شکل ۱- دستگاه گوارش لارو سوسک برگ‌خوار سیب‌زمینی (IL)

روده باریک، *Mt* لوله مالپیگی، *Oe* مری، *Ph* گلو، *Pr* پیش‌معه، *Re* راست‌روده، *Ve* معده)

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

بخش میانی عریض‌ترین قسمت لوله گوارش لارو سوسک برگ‌خوار سیب‌زمینی بوده و به طول حدود  $5/5 \pm 0/5$  میلی‌متر می‌باشد. این بخش شامل معده (Ventriculus) است و در برش عرضی ساختمان آن از بیرون به‌درون قسمت‌های مختلف شامل بافت ماهیچه‌ای منخطط طولی، ماهیچه منخطط حلقوی و سلول‌های پوششی وجود دارد. این بخش در سمت درونی فاقد لایه کوتیکولی می‌باشد و در داخل حفره آن بافتی به نام پرده دورغذایی (Peritrophic membrane) وجود داشته که مواد غذایی را در بر می‌گیرد. ضخامت دیواره بخش میانی  $5 \pm 7/5$  میکرومتر بوده و سلول‌های پوششی آن به شکل استوانه‌ای و با ارتفاع میانگین  $3 \pm 5/0$  میکرومتر هستند. هسته سلول‌های پوششی دارای قطری بین  $2/5 \pm 1/5$  میکرومتر

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

بوده و این سلول‌ها در سطح آزاد خود مجهز به مژک‌های ردیفی (Microvilli) به طول  $9 \pm 1$  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 به سمت 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 به طول  $9/5 \pm 0/5$  میلی‌متر می‌باشد. این بخش از دریچه پیلوروس (Pylorus) آغاز و شامل قسمت‌های روده باریک (Ileum) و راست‌روده (Rectum) است و در محل دریچه پیلوروس ۶ عدد لوله مالپیگی متصل می‌باشد. در برش عرضی ساختمان آن از بیرون به درون 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  $11 \pm 1$  میکرومتر است. خارجی‌ترین قسمت بخش کوتیکولی، لایه روکوتیکول (Epicuticle) است که دارای ضخامتی در حدود  $0/1$  میکرومتر بوده و سپس لایه پروکوتیکول (Procuticle) که به صورت چندین ورقه مشاهده می‌گردد، قرار می‌گیرد. ضخامت لایه پروکوتیکول در نقاط مختلف متغیر بوده و بین  $1/5 \pm 0/5$  میکرومتر می‌باشد (شکل ۴). در زیر لایه کوتیکول، سلول‌های پوششی قرار دارند. این سلول‌ها به شکل پهن با سیتوپلاسم حاوی اندامک‌های مختلف از قبیل میتوکندری، واکوئل و شبکه آندوپلاسمی بوده و هسته این سلول‌ها دارای طول  $5/5 \pm 0/5$  و عرض  $1/5 \pm 0/5$  میکرومتر است. سلول‌های پوششی تا غشاء پایه گسترش یافته که ضخامت این غشاء نیز حدود  $0/5$  میکرومتر می‌باشد (شکل‌های ۲، ۳ و ۴).

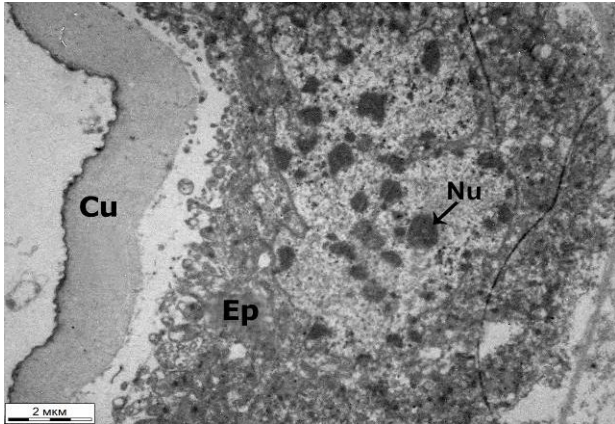
بر اساس مطالعات انجام شده در لاروهای تیمار شده با غلظت  $10$  میکروگرم دیفلوبنزورون به روش گوارشی، سلول‌های پوششی بخش میانی دستگاه گوارش دارای رشد خوبی بوده و فقط در مواردی صدمات جزئی دیده شد. اما در بیشتر لاروهای تیمار شده در معده، پرده دور غذایی مشاهده نشد و در تعدادی از لاروها نیز این پرده به صورت ناقص تشکیل گردیده بود (شکل ۵). در بخش جلویی و عقبی دستگاه گوارش تغییرات شدیدی مشاهده گردید. در سلول‌های پوششی بخش عقبی از صدمه جزئی تا تحلیل کامل سلول مشاهده گردید، به طوری که 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 به صورت تحلیل تعدادی از ورقه‌های آن مشاهده گردیده و در مواردی نیز تمام قسمت کوتیکول درونی از بین رفته بود (شکل‌های ۶ و ۷). در لایه غشای پایه تغییری مشاهده نشده و فقط بین غشای پایه و سلول‌های پوششی فاصله زیادی تا  $10$  میکرومتر ایجاد گردیده بود (شکل ۷).

مطالعات انجام شده نشان داد که در لاروهای تیمار شده با غلظت  $10$  میکروگرم پریکوسن-I به روش موضعی، بیشترین تغییرات در بخش میانی دستگاه گوارش مشاهده شد. این تغییرات شامل ایجاد فضای خالی به عرض  $6 \pm 4$  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 تیمار شده 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  $3/5 \pm 1/5$  میکرومتر در بین سلول‌های پوششی و لایه کوتیکولی بوده (شکل‌های ۹ و ۱۰) و در بسیاری از سلول‌های پوششی فقط بخش سیتوپلاسمی آن باقی

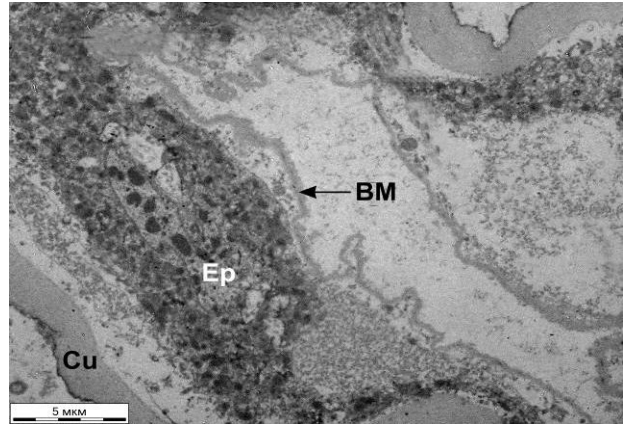
مانده و سایر اجزای آن از بین رفته بودند. همچنین در ساختمان لایه کوتیکولی لوله گوارش لاروهای تیمار شده با پریکوسن-I تغییر چندانی مشاهده نشده و لایه‌های کوتیکول بیرونی و کوتیکول درونی قابل تفکیک بودند (شکل ۱۰). با بررسی لاروهای تیمار شده با غلظت ۱۰ میکروگرم پریکوسن-II به روش موضعی مشخص شد که تغییرات ایجاد 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 به صورت کاهش اندازه آن‌ها بود که میانگین قطر این سلول‌ها حدود  $10 \pm 4$  میکرومتر اندازه‌گیری گردید. در بخش عقبی نیز بیشتر سلول‌های پوششی دارای تغییرات شدید بوده و در مواردی تحلیل کامل آن‌ها نیز مشاهده شد، در حالی که 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 به جهت تحلیل این سلول‌ها می‌باشد.

نتایج حاصل از این پژوهش اثر دیفلوبنزورون را در مهار فرایند سنتز کیتین آشکار ساخته، به طوری که 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 به دست آمده مشخص کرد که دیفلوبنزورون بیشترین تاثیر را روی ساختار کوتیکولی و به ویژه لایه کوتیکول درونی به صورت تحلیل لایه‌های مختلف و ورقه شده شدن آن و ایجاد شکاف داشته و علاوه بر آن، وجود حفره در بین کوتیکول و نیز ایجاد فاصله بین لایه اندوکوتیکول از دیگر علائم 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 تیمار شده 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 به صورت تشکیل ناقص این پرده تا تحلیل کامل آن مشاهده گردید.

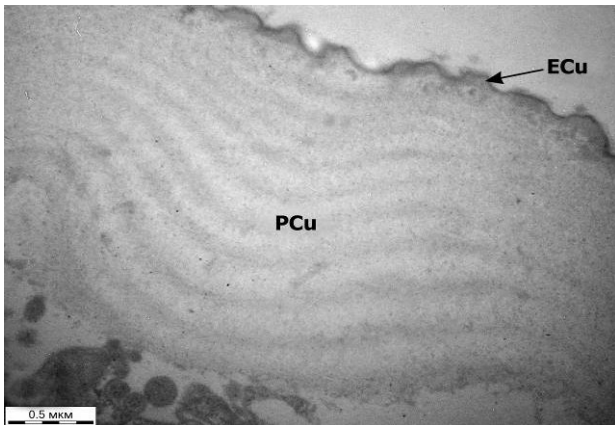
ترکیبات مهارکننده هورمون جوانی، پریکوسن‌ها، بیشترین تغییرات را در بخش میانی ایجاد کرده که شامل باریک شدن سلول‌های پوششی، تحلیل مژک‌های ردیفی، ایجاد فاصله بین سلول‌های پوششی و نیز بین لایه سلول‌های پوششی و غشای پایه می‌باشند. نتایج به دست آمده در این پژوهش با تغییرات ایجاد شده روی لارو سن آخر *Heliothis 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 لوله گوارش در مقایسه با پوره‌های شاهد به شدت کاهش یافته، ضمن این که 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).



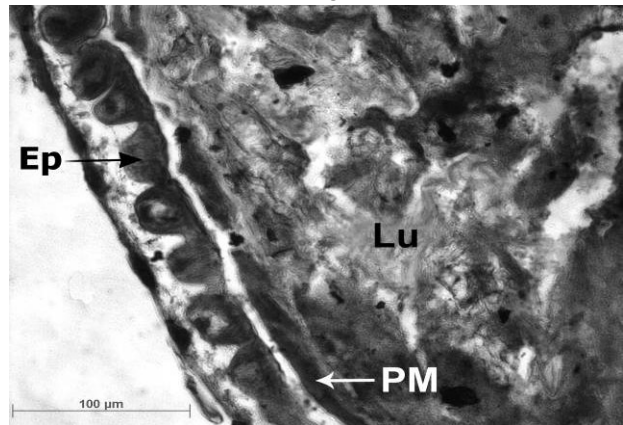
2



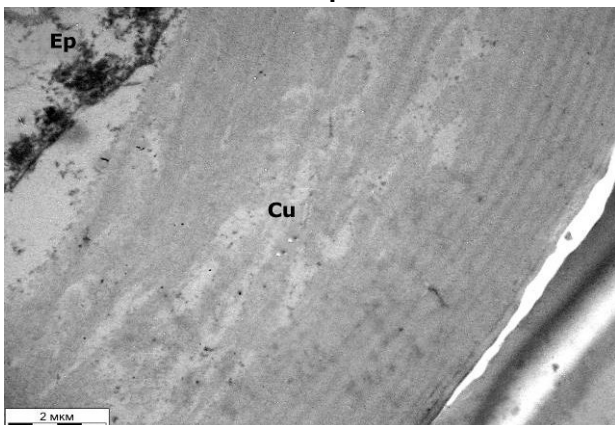
3



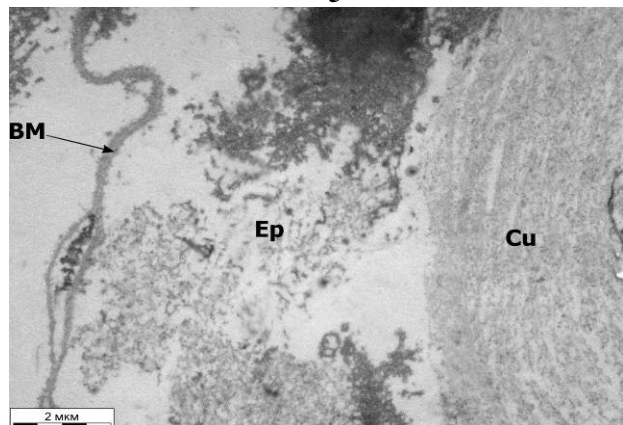
4



5



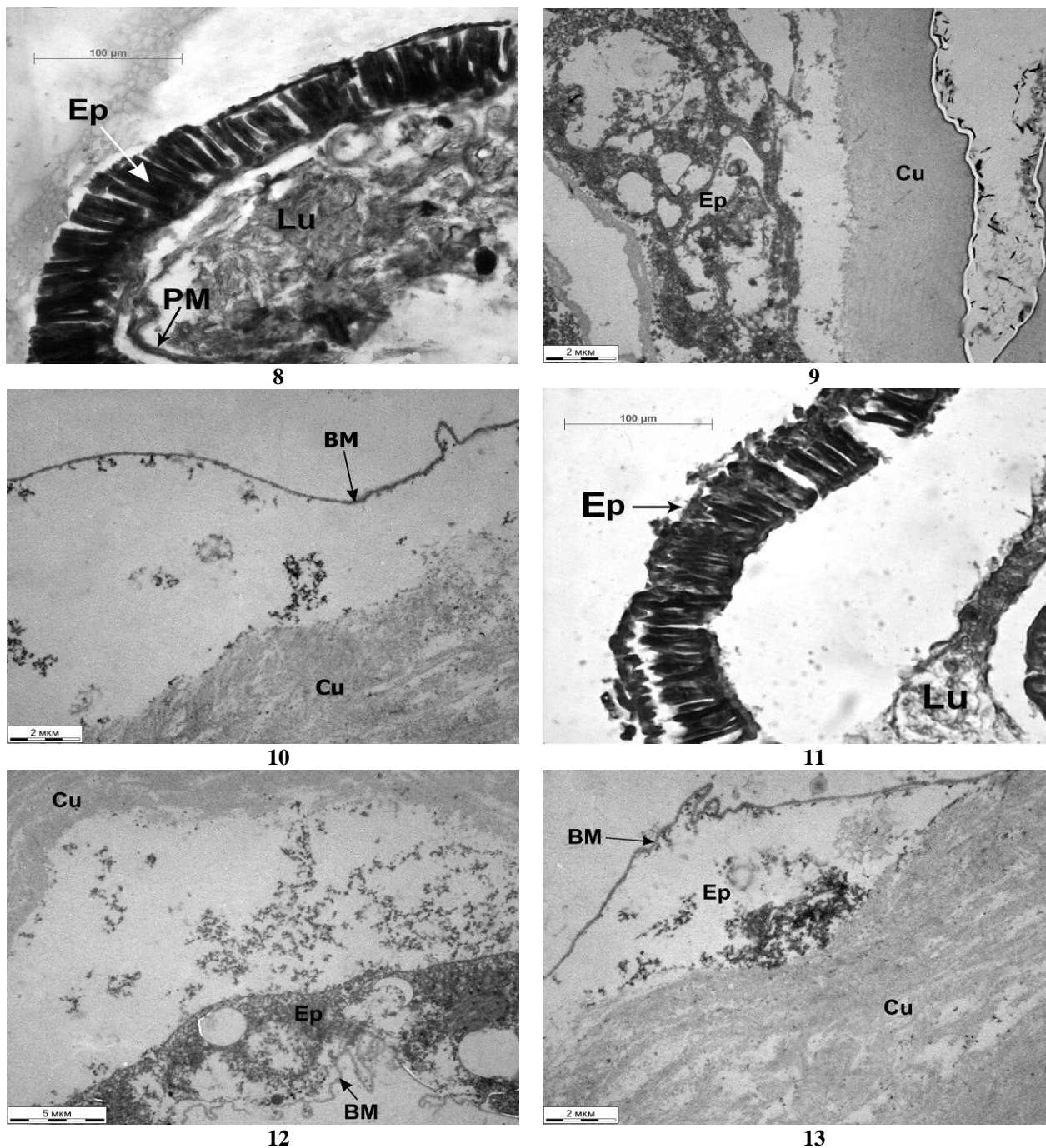
6



7

شکل های ۲-۴- برش عرضی بخش عقبی دستگاه گوارش لارو سوسک برگ‌خوار سیب‌زمینی (شاهد). شکل ۵- برش عرضی بخش میانی دستگاه گوارش لارو سوسک برگ‌خوار سیب‌زمینی تیمار شده با دیفلوبنزورون، شکل های ۶-۷- 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 Diflobenzuron, Figs. 6-7- TEM micrographs of the digestive system hindgut of CPB larvae treated with Diflobenzuron. (BM: Basement membrane, Cu: Cuticle, ECu: Epicuticle, Ep: Epithelium, Lu: Lumen, Mu: Muscle, Nu: Nucleus, PCu: Procuticle, PM: Peritrophic membrane)**



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، شکل ۱۱- برش عرضی بخش میانی دستگاه گوارش لارو سوسک برگ‌خوار سیب‌زمینی تیمار شده با پریکوسن-II، شکل‌های ۱۲-۱۳- برش عرضی بخش عقبی دستگاه گوارش لارو سوسک برگ‌خوار سیب‌زمینی 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: Cuticle, Ep: Epithelium, Lu: Lumen, Mu: Muscle, PM: Peritrophic membrane)



با توجه به نتایج مشخص شد که ترکیب دیفلوبنزورون بیشتر روی لایه کوتیکولی بخش‌های جلویی و عقبی و نیز پرده دور غذایی اثر داشته در حالی که 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., Ohta, 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. Ukraine. 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

## 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

\* Corresponding Author, E-mail: [farazmand@entomology.ir](mailto:farazmand@entomology.ir)  
Received: 12 February 2009 – Accepted: 1 July 2009



This document was created with Win2PDF available at <http://www.daneprairie.com>.  
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.