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

فصلنامه تخصصی تحقیقات حشره‌شناسی
(علمی- پژوهشی)
جلد ۱۲، شماره۲، سال ۱۳۹۹، (۱۰۱-۸۳)

تاثیر حشره‌کش‌های تیاکلوپرید و افوریا بر پارامترهای جدول زندگی و فعالیت آنزیم‌های سم‌زدای شته سبز گندم *Schizaphis graminum* (Rondani)

پژمان آئینه‌چی[۱]، بهرام ناصری[۲]

۱- دانش آموخته دکتری حشره شناسی کشاورزی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی ، دانشگاه محقق اردبیلی ، اردبیل ، ایران
۲-عضو هیئت علمی ، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی ، دانشگاه محقق اردبیلی ، اردبیل ، ایران

چکیده

شته سبز گندم، *Schizaphis graminum* Rondani (Hem.: Aphididae) یکی از آفات مهم گندم است که با تغذیه از گیاه و انتقال ویروس‌های بیماری‌زا، تولید این محصول را محدود می‌کند. آنزیم‌های سم‌زدا نقش بسیار مهمی در سم‌زدایی ترکیبات ناگوارد در بسیاری از موجودات زنده ایفا می‌کنند. این آنزیم‌ها در معرض ترکیبات ناگوارد به عنوان نشانگرهای زیستی قلمداد می‌شوند و در واقع به دلیل تفاوت‌های بیوشیمایی در سم‌زدایی حشره‌کش‌ها درجات مختلفی از حساسیت به ترکیبات شیمیایی دارند. در مطالعه پیش‌رو، زیست‌سنجی‌ها با غوطه‌ور کردن برگ‌های گندم در محلول حشره‌کش در دمای ۲ ± ۲۷ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۱۰ ± ٦٥ درصد و دوره نوری ١٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی بررسی شد. اثر تیاکلوپرید و افوریا در غلظت‌های زیرکشنده (LC_{10} و LC_{30}) بر پارامترهای جدول زندگی و میزان فعالیت آنزیم‌های سم‌زدای شته سبز گندم مورد ارزیابی قرار گرفته است. فعالیت استرازها، گلوتاتیون اس ترانسفراز و استیل کولین استراز به عنوان آنزیم‌های سم‌زدا اندازه‌گیری شد. با توجه به نتایج به دست آمده غلظت میانه کشنده برای شته در معرض تیاکلوپرید و افوریا به ترتیب ۲۱۲/۷ و ۲۰۳/۹ $mg(ai)L^{-1}$ محاسبه شد. در میان تیمارها، غلظت LC_{30} حشره‌کش افوریا سمی‌ترین ترکیب مورد آزمایش روی شته سبز گندم بود. تاثیر LC_{30} هر دو حشره‌کش بر شته *S. graminum* باعث افزایش افزایش معنی‌دار در القای آنزیم‌های بتا استراز و گلوتاتیون اس ترانسفراز (GST) شد. در این بررسی فعالیت آلفا استراز و استیل کولین استراز به موازات افزایش غلظت‌های زیرکشنده تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت. نتایج نشان داد که در غلظت‌های زیرکشنده دو شته‌کش تیاکلوپرید و افوریا اثر منفی روی پارامترهای جدول زندگی شته *S. graminum* داشتند و می‌توان آن‌ها را توسط آنزیم‌های سم‌زدا به عنوان نشانگرهای بیوشیمیایی شناسایی کرد.

واژه‌های کلیدی: *Schizaphis graminum*، تیاکلوپرید، افوریا، آنزیم‌های سم‌زدا، پارامترهای جدول زندگی

* نویسنده رابط، پست الکترونیکی: *Mozhgan.yousefi2018@gmail.com*

تاریخ دریافت مقاله:۹۹/۲/۹ – تاریخ پذیرش مقاله:۹۹/٦/۱٥

مقدمه

گندم (*Triticum aestivum* L.) گیاهی یک لپه‌ای از تیره غلات بوده و به خاطر سازگاری بالا با شرایط مختلف آب و هوایی، امکان نگهداری طولانی مدت، سهولت کشت و غیره اهمیت بسزایی در تامین غذای انسان دارد (آنت و همکاران، ۱۳۹۲). شته‌ها از شایع‌ترین آفات غلات هستند و به دلیل عوامی همچون زنده‌مانی و نرخ تولیدمثل بالا باعث کاهش عملکرد محصول می‌شوند (Carver. 1989). شته سبز گندم، *Schizaphis graminum* (Rondani) یکی از مهم‌ترین آفاتی جهانی غلات است که در دنیا بیش از ۲۰۰ گونه گیاهی میزبان دارد و در آمریکا، اروپا، آسیا و آفریقا انتشار یافته است. این شته از نظر تغذیه مستقیم از گیاهان میزبان و انتقال عوامل بیماری‌زای ویروسی اهمیت دارد و ایجاد خسارت اقتصادی می‌کند (Blackman and Eastop. 2006). همچنین این آفت از طریق مکیدن شیره بذرهای تازه تشکیل شده، سبب خشکی و پژمردگی محصول می‌شود (van Emden *et al*.. 2007). متداول‌ترین روش کنترل شته‌ها، استفاده از حشره‌کش‌های شیمیایی است. کاربرد آفت‌کش‌های شیمیایی باعث توسعه مقاومت و طغیان در گونه‌های آفات، نابودی دشمنان طبیعی و آلودگی محیط زیست می‌شوند (Mingjing *et al*.. 2003).

در میان حشره‌کش‌های مناسب در کنترل شته‌ها، تیاکلوپرید به عنوان حشره‌کش نئونیکوتینوئیدی برای مدیریت حشرات مکنده در داخل و خارج از گلخانه (Purhematy *et al*.. 2013) و افوریا به عنوان حشره‌کش ترکیبی (Nikolova *et al*.. 2018) برای کنترل آفات جونده و مکنده روی محصولات مختلف گزارش شده است. تیاکلوپرید و افوریا شته‌کش‌های مناسبی به شمار می‌روند و در عین حال برای بسیاری از دشمن طبیعی شته‌ها بی‌زیان هستند (Purhematy *et al*.. 2013; Ahmed *et al*.. 2014; Pasini *et al*.. 2018).

از دیرباز، برای تخمین و مقایسه سریع چندین ترکیب شیمیایی و اثر آن‌ها روی افراد یک گونه خاص از غلظت کشنده (LC_{50} و LD_{50}) استفاده می‌شود (Stark *et al*.. 2007). اثر حشره‌کش‌ها روی آفات باید همه جانبه بوده و علاوه بر میزان کشندگی، اثرات فیزیولوژیک آن‌ها در غلظت‌های زیرکشنده نیز در نظر گرفته شود. لذا بررسی تاثیر حشره‌کش‌ها با روش معمول زیست‌سنجی که در آن فقط میزان تلفات آفات بررسی می‌شود، کافی نیست. روش سم‌شناسی دموگرافیک علاوه بر بررسی اثر کشندگی، اثرات حشره‌کش‌ها را روی پارامترهای جدول زندگی نیز در نظر می‌گیرد و اطلاعات کاملی از بقا و نشوونمای جمعیت حشره فراهم می‌کند (Chi and Yang. 2003).

به منظور تخمین تاثیرپذیری موجودات زنده از مواد شیمیایی و آلاینده‌های محیط زیست تغییرات فیزیولوژیک، بیوشیمی و بافت‌شناسی اهمیت روزافزون یافته است. با استفاده از نشانگرهای زیستی این تغییرات شناسایی می‌شوند. غلظت برخی آلاینده‌ها برای ردیابی بسیار پایین است در نتیجه برای شناسایی اثرات این ترکیبات بر موجودات زنده از نشانگرها استفاده می‌کنند. آنزیم‌های گلوتاتیون ترانسفراز، استراز و مونواکسیژناز P_{450} نمونه‌ای از نشانگرهای زیستی می‌باشند که در سم‌زدایی و بیوترانسفرماسیون ترکیبات شیمیایی دخالت دارند (Hyne and Maher. 2003). بررسی نشانگرهای بیوشیمیایی بر موجودات زنده در معرض ترکیبات شیمیایی در شرایط آزمایشگاهی می‌توانند در پیش‌بینی اثرات آلودگی بر جمعیت در مزرعه راه‌گشا باشند (Hayes and Pulford. 1995).

بررسی تاثیر حشره‌کش‌ها بدون در نظر گرفتن اثر آن‌ها روی جنبه‌های بیوشیمیایی یک حشره کافی نمی‌باشد، به طوری که تغییر ویژگی‌های بیوشیمیایی یک حشره در اثر مواد سمی منجر به تغییرات دموگرافیک جمعیت خواهد شد (Kammenga and Laskowski. 2000). استرازها گروه وسیع و متنوعی از آنزیم‌ها هستند که با افزودن یک مولکول آب به باند استری، دامنه وسیعی از ترکیبات استری آروماتیک، آلیفاتیک و کولین استرها را هیدرولیز می‌کنند (Dauterman.

1985). آنزیم استیل کولین استراز از سرین هیدرولازها می‌باشد و به عنوان یک آنزیم کلیدی در سیستم عصبی، انتقال دهنده عصبی استیل کولین را به استات و کولین هیدرولیز می‌کند و به تحریک‌های عصبی خاتمه می‌دهد (Wang *et al*.. 2004). گلوتاتیون اس-ترانسفرازها تری‌پپتید گلوتاتیون را به مراکز الکترون دوست ترکیبات چربی دوست مزدوج می‌کنند، که طی این عمل ترکیبات سمی حلالیت بیش‌تری در آب پیدا کرده و از میزان سمیت آن‌ها کاسته می‌شود (Vontas *et al*.. 2001).

با توجه به اثرات مخرب حشره‌کش‌های شیمیایی روی محیط زیست و مقاومت آفات به حشره‌کش‌ها، امروزه استفاده از روش‌های کنترل که منجر به کاهش استفاده از حشره‌کش‌های شیمیایی گردد بیش‌تر مورد توجه قرار گرفته است. برای این منظور، آگاهی داشتن از فیزیولوژی و بیوشیمی هضم و جذب غذا با اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های گوارشی حشرات در واکنش به تیمار حشره‌کش دارای اهمیت است (George *et al*.. 2008). در میان آنزیم‌های گوارشی کلیدی در حشرات، پروتئازها و آمیلازها نقش مهمی در هضم مواد پروتئینی و کربوهیدرات خورده شده ایفا می‌کنند (Thomas *et al*.. 1994). اختلال در متابولیسم پروتئین و کربوهیدرات می‌تواند یک هدف کلیدی در کنترل حشرات باشد (Hilder *et al*.. 1992; Oliviera-Neto, *et al*.. 2003).

بررسی منابع نشان می‌دهد که در مورد اثرات جانبی حشره‌کش‌های افوریا و تیاکلوپرید روی شته *S. graminum* مطالعه‌ای صورت نگرفته است. در این بررسی، با توجه به اهمیت شناسایی حشره‌کش‌های مناسب برای مدیریت شته سبز گندم، اثرات زیرکشندگی حشره‌کش‌های تیاکلوپرید و افوریا روی پارامترهای جدول زندگی، بیوشیمیایی و فیزیولوژی گوارشی شته سبز گندم در شرایط آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

کشت گندم

بذر رقم چمران (مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل) به طور منظم، دو بار در هفته در گلدان‌های پلاستیکی (ارتفاع ۲۰ و قطر دهانه ۱۵ سانتی‌متر) حاوی خاک زراعی و ماسه کاشته می‌شدند. به منظور تسریع در جوانه‌زنی، بذرهای گندم پیش از کاشت به مدت ۲٤ تا ٤۸ ساعت در آب خیس خورده بودند و به تعداد ۱۵ تا ۲۰ عدد در سطح خاک ریخته و روی بذرها با مقداری دیگر خاک پوشانیده می‌شد. گیاهان در شرایط گلخانه با دمای ۲۲-۲۸ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۱۰±۵۰ درصد و دوره نوری طبیعی کشت و یک روز در میان آبیاری می‌شدند. همچنین گیاهان برای جبران کمبود مواد غذایی، هر هفته یک بار کود نیتروژن به نسبت یک تا سه گرم در لیتر به گیاهان داده می‌شد. هنگامی که ارتفاع گیاهان حدود ۱۵ سانتی‌متر می‌رسیدند، به اتاق رشد منتقل تا توسط شته‌ها آلوده شوند.

پرورش شته سبز گندم

جمعیت اولیه شته سبز گندم متعلق به آزمایشگاه تحصیلات تکمیلی دانشگاه محقق اردبیلی بود که پس از اطمینان از تایید گونه توسط موسسه تحقیقات کشاورزی تهران در شرایط جدید روی گیاهان گندم در اتاقک رشد (دمای ۱±۲۷ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۱۰±٦۵ درصد و دوره نوری ۱٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) پرورش داده شد. به منظور حفظ جمعیت کلنی شته‌ها، هر دو روز یکبار چند گیاه گندم سالم و شاداب در اختیار شته‌ها قرار می‌گرفت.

حشره‌کش‌ها

جهت انجام آزمایش‌ها، دو ترکیب حشره‌کش تیاکلوپرید (بیسکایا®، 24% OD، شرکت بایر) و افوریا (247 SC، شرکت سینجنتا) مورد استفاده قرار گرفت. افوریا ترکیبی از دو حشره‌کش کم مصرف و بسیار قوی با اثر گوارشی و تماسی است و این حشره‌کش حاوی ۱٤۱ گرم تیامتوکسام و ۱۰٦ گرم لامبداسی‌هالوترین در هر لیتر است. تیاکلوپرید با نام تجاری بیسکایا یک حشره‌کش سیستمیک از گروه نئونیکوتینوئیدها با اثر تماسی و گوارشی است که روی سامانه اعصاب مرکزی اثر می‌گذارد.

زیست‌سنجی شته‌ها

با استفاده از شته‌های ماده بالغ بی‌بال (۲٤ ساعته)، زیست‌سنجی شته‌ها به روش تماس با باقیمانده خشک حشره‌کش به جای مانده بر سطح برگ انجام شد. غلظت‌های پایین و بالا (کم‌تر از ۲۰ و بیش‌تر از ۸۰ درصد کشندگی) از فرمولاسیون حشره‌کش‌ها پس از انجام آزمون‌های مقدماتی تعیین شدند. با استفاده از فواصل لگاریتمی، تعداد پنج غلظت از هر یک از فرمولاسیون‌های تجاری (بیسکایا، ۵۰، ۸۷، ۱٤۵، ۲٤۰ و ٤۰۰ میلی‌گرم ماده موثر بر لیتر و افوریا، ٤۰، ۷۱، ۱۲٤، ۲۱٤ و ۳۸۰ میلی‌گرم ماده موثر بر لیتر) در آب مقطر (حلال) ساخته شد. به منظور آزمایش زیست‌سنجی، برگ‌های گندم از گیاهان همسن در هر یک از غلظت‌های محلول‌های حشره‌کش به مدت ۱۰ ثانیه غوطه‌ور شده و در زیر هود به مدت یک ساعت خشک شدند. روی هر برگ توسط لوله پلاستیکی (۸ سانتی‌متر ارتفاع و ۰/۵ سانتی‌متر قطر) که دارای سوراخ‌هایی جهت تهویه بود پوشانده شد. سپس ۲۰ شته ماده بالغ همسن روی هر برگ درون لوله پلاستیکی مستقر شدند. پس از ۲٤ ساعت، شته‌هایی که با تحریک قلم‌مو حرکت نمی‌کردند مرده تلقی می‌شدند. آزمایش در سه تکرار در هر تیمار انجام و مجموعا برای هر غلظت ٦۰ عدد و برای هر یک از حشره‌کش‌ها ۳٦۰ عدد شته بالغ ارزیابی شد.

جدول زندگی شته‌ها

به منظور بررسی جدول زندگی شته‌ها، گیاهان گندم با غلظت‌های LC_{10} و LC_{30} حشره‌کش‌ها تیمار و تعداد سه شته بالغ ماده درون هر لوله پلاستیکی (۸ سانتی‌متر ارتفاع و ۰/۵ سانتی‌متر قطر) قرار داده شدند. پس از ۲٤ ساعت، این شته‌ها و پوره‌ها به جز یک پوره سن اول حذف شدند. تیمارها روزانه بررسی و درصد مرگ و میر و نشوونمای شته‌ها ثبت شد. پس از ظهور حشرات کامل، طول عمر و زادآوری آن‌ها تا زمان مرگ تمامی شته‌های بالغ ثبت شد. این آزمایش دارای ۵۰ تکرار در هر تیمار بود.

تهیه نمونه آنزیمی

برای این منظور، شته‌های بالغ به روش گفته شده در بالا تحت تاثیر غلظت‌های زیرکشنده (LC_{10} و LC_{30}) هر دو حشره‌کش قرار گرفتند. پس از ۲٤ ساعت ۵۰ عدد شته بالغ ماده در ۲۵۰ میکرولیتر بافر فسفات (pH=7) حاوی ۰/۱ درصد ترایتون X-100 روی یخ توسط هموژنایزر دستی همگن شدند. سپس میکروتیوب‌های حاوی نمونه‌های همگن شده با سرعت g×۱۲۰۰۰ در دمای ٤ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه سانترفیوژ شدند. از سوپرناتانت به عنوان نمونه آنزیمی استفاده شد.

اندازه‌گیری غلظت پروتئین

میزان پروتئین توسط روش بردفورد با استفاده از سرم آلبومین گاوی به عنوان پروتئین استاندارد در نظر گرفته شد (Bradford. 1976). این آزمایش در سه تکرار انجام شد.

سنجش آنزیم گلوتاتیون اس-ترانسفراز

در سنجش گلوتاتیون اس-ترانسفراز (GST) روش (Habig *et al*.. 1974) مورد استفاده قرار گرفت. ۱۵ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۱۳۵ میکرولیتر بافر فسفات، ۱۰۰ میکرولیتر CDNB (۱/۲ مولار) به عنوان سوبسترا و ۱۰۰ میکرولیتر GSH (۱۰ میلی‌مولار) در چاهک‌های میکروپلیت ریخته و جذب نوری آنزیم طی زمان هفت دقیقه هر ۳۰ ثانیه یکبار در طیف نوری ۳٤۰ نانومتر خوانده شد.

سنجش آنزیم استراز

اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم به روش (van Asperen.. 1962) انجام شد. مقدار ۱۲/۵ میکرولیتر نمونه آنزیمی به همراه ۱۱۲/۵ میکرولیتر بافر فسفات (pH=7)، ۵۰ میکرولیتر سوبسترا (آلفا نفتیل استات ۰/۵ میلی‌مولار و بتا نفتیل استات ۱/۸ میلی‌مولار به طور جداگانه) و ۵۰ میکرولیتر محلول فاست بلو آرآر (۰/۰۷۵ درصد) مخلوط شدند. پس از ۱۵ دقیقه نگهداری در تاریکی، جذب نمونه‌ها در ٤۵۰ نانومتر برای آلفا نفتیل استات و ٥٤۰ نانومتر برای بتا نفتیل استات بخ مدت ۷ دقیقه هر ۳۰ ثانیه یکبار توسط دستگاه الایزاریدر خوانده شد.

سنجش آنزیم استیل کولین استراز

برای سنجش فعالیت این آنزیم از روش (Ellman *et al*.. 1961) استفاده شد. مخلوط واکنش شامل٤۰ میکرولیتر نمونه آنزیمی، ۱٤۰ میکرولیتر بافر فسفات (pH=7)، ۲۰ میکرولیتر محلول DTNB و ٤۰ میکرولیتر ATCH به عنوان سوبسترا بود. جذب نمونه در ٤۱۵ نانومتر به مدت ۷ دقیقه هر ۳۰ ثانیه یکبار خوانده شد.

سنجش آنزیم پروتئاز کل

میزان فعالیت پروتئاز با استفاده از سوبسترای آزوکازئین با روش (Elpidina *et al*.. 2001) انجام گرفت. بدین ترتیب، ۵۰ میکرولیتر محلول آزوکازئین ۱/۵ درصد در بافر Glycine-NaOH (pH=7) و ۱۵ میکرولیتر نمونه آنزیمی مخلوط و به مدت ۵۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه شدند. هضم پروتئین با اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر تری کلرواستیک اسید (۳۰ درصد) متوقف به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سلسیوس رسوب داده شد. پس از سانترفیوژ با سرعت g× ۱٦۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه، حجمی مساوی از هیدروکسید سدیم (۲ مولار) به رونشین اضافه و جذب نوری در ٤٤۰ نانومتر خوانده شد.

سنجش آنزیم آمیلاز

مخلوط واکنش شامل ۱۳۰ میکرولیتر بافر Tris-HCL (pH=7)، ۲۰ میکرولیتر نمونه آنزیمی و ٦۰ میکرولیتر نشاسته ۱ درصد پس از گذشت ۳۰ دقیقه واکنش در دمای ۳۷ درجه سلسیوس با ۱۰۰ میکرولیتر معرف DNSA اضافه شد. سپس در حمام آبی (۸۵ درجه سلسیوس) به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد. پس از ۵ دقیقه سانترفیوژ (×g ۱٦۰۰۰ و دمای ٤ درجه سلسیوس) جذب در طول موج ٥٤۰ نانومتر خوانده شد (Bernefeld. 1955).

آنالیز داده‌ها و محاسبات آماری

در آزمون تعیین سمیت در کوتاه مدت (۲٤ ساعت) مرگ و میر شته‌های بالغ توسط فرمول ابوت اصلاح و رگرسیون غلظت-مرگ و میر از طریق آنالیز پروبیت با استفاده از نرم‌افزار SPSS 16 ارزیابی شد (Polo-PC Probit, Leora software 1997). پارامترهای جدول زندگی با استفاده از جدول زندگی دو جنسی (Chi and Liu. 1985) طبق روش توضیح داده شده توسط Chi (1988) تجزیه شدند. تجزیه داده‌ها توسط نرم‌افزار TWOSEX-MSChart انجام و جهت

تکراردار کردن داده‌ها از روش بوت استرپ استفاده شد (Chi. 2015). اختلاف آماری بین پارامترهای جدول زندگی با استفاده از آزمون جفت‌شده بوت‌استرپ مقایسه شدند.

آزمایش‌های بیوشیمیایی در سه تکرار و در تمامی واکنش‌ها در بلانک‌ها از آب مقطر به جای نمونه آنزیمی استفاده شد. تجزیه واریانس ANOVA و مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون Tuckey در نرم‌افزار SPSS 16 انجام شد. نمودارهای آزمایش‌های بیوشیمیایی با استفاده از نرم‌افزار Exel 2016 و نمودارهای جدول زندگی با استفاده از نرم‌افزار SigmaPlot 12 ترسیم شدند.

نتایج

آزمایش زیست‌سنجی

نتایج اثرات کوتاه مدت (٢٤ ساعته) حشره‌کش‌های تیاکلوپرید و افوریا بر *S.graminum* نشان داد که غلظت میانه کشنده (LC_{50}) به ترتیب ٢١٢/٧ و ٢٠٣/٩ میلی‌گرم ماده موثر بر لیتر بودند (جدول ١). بر اساس مقادیر LC_{50} حشره‌کش‌ها، سمیت حشره‌کش افوریا از تیاکلوپرید بیش‌تر بود، ولی به دلیل هم‌پوشانی محدوده اطمینان اختلاف آن‌ها معنی‌دار نبود. بدین شرح که تیمار LC_{10} تیاکلوپرید و LC_{30} افوریا به ترتیب کم‌ترین و بیش‌ترین سمیت را روی شته سبز گندم ایجاد کردند.

پارامترهای جدول زندگی

تیمارهای زیرکشنده دو حشره‌کش افوریا و تیاکلوپرید تاثیر معنی‌داری روی پارامترهای جدول زندگی شته *S. graminum*از قبیل نرخ ذاتی افزایش جمعیت (r)، نرخ خالص تولیدمثل (R_0)، مدت زمان طول یک نسل (T) و نرخ متناهی افزایش جمعیت (λ) داشتند (جدول ٢). مقدار r از ٠/١٢٨ تا ٠/٣٦٢ بر روز متغیر بود که کم‌ترین مقدار در تیمار LC_{30} افوریا و بیش‌ترین مقدار آن در شاهد ثبت شد. بیش‌ترین مقدار R_0 در شاهد (٤٥/٢٧) کم‌ترین در تیمار LC_{30} افوریا (٤/٩٢) بود. مقدار پارامتر T در تیمار حشره‌کش‌ها افزایش بافت به طوری که کوتاه‌ترین مقدار T برای شاهد و طولانی‌ترین مقدار آن برای تیمار LC_{30} افوریا ثبت شد. همچنین مقادیر λ در شاهد، LC_{10} تیاکلوپرید، LC_{30} تیاکلوپرید، LC_{10} افوریا و LC_{30} افوریا به ترتیب ١/٤٣، ١/٣٤، ١/٢٣، ١/٢٦ و ١/١٣ بر روز بود.

نتایج حاصل از دوره زندگی نشان داد که تیمارهای حشره‌کش‌های تیاکلوپرید و افوریا، طول عمر و زادآوری شته بالغ سبز گندم را کاهش و طول دوره نابالغ را افزایش دادند (جدول ٣). دوره نشوونمای پورگی به طور معنی‌داری در تیمارهای افوریا و LC_{30} تیاکلوپرید افزایش یافت، ولی در تیمار LC_{10} تیاکلوپرید افزایش معنی‌دار نبود. طول عمر شته بالغ در شاهد طولانی‌ترین (١٦/٦٠ روز) و در تیمار LC_{30} افوریا کوتاه‌ترین (٨/٢٠ روز) بود. تفاوت معنی‌داری در زادآوری شته سبز گندم تیمار شده با تیمارهای حشره‌کشی وجود داشت، در حالی که دوره پیش از تخمریزی حشره بالغ (APOP) تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت. بیش‌ترین زادآوری شته ٥١/٢١ پوره/به ازای هر شته کامل در شاهد ثبت شد. دوره پوره‌زایی در شاهد با مقدار ٠٣ / ١١ روز بیش‌ترین و در تیمار LC_{30} افوریا با ٣/٠٣ روز کم‌ترین بود.

نرخ زادآوری ویژه سن-مرحله

بر اساس منحنی زادآوری ویژه سنی (m_x) (تعداد نتاج ماده تولید شده در واحد زمانی توسط یک ماده با سن x) شته سبز گندم در تیمارهای مختلف (شکل ١)، اوج پوره‌زایی این آفت در شاهد (٥/٥١ نتاج) در روز ٩، و در تیمارهای LC_{10}

تیاکلوپرید (٤/٢ نتاج)، LC_{10} افوریا (٢/٥٢ نتاج)، LC_{30} تیاکلوپرید (٣/٠١ نتاج) و LC_{30} افوریا (١/٦١ نتاج) به‌ترتیب در روزهای ۹، ۱۰، ۱۰ و ۱۰ مشاهده شد.

سنجش آنزیم استراز

نتایج حاکی از ارزیابی اثرات دو حشره‌کش مورد مطالعه بر فعالیت ویژه آنزیم‌های آلفا و بتا-استراز *S. graminum* نشان داد نوعی القای آنزیم بتا-استراز با افزایش غلظت‌های زیرکشنده ۳۰ درصد حشره‌کش‌های مورد آزمایش مشاهده می‌شود (شکل ۲). فعالیت آلفا-استراز در تیمار حشره‌کش‌ها تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت ($F=2.03$; $df= 4, 10$; $p=0.166$). در تیمار LC_{30} افوریا و تیاکلوپرید فعالیت بتا-استراز نسبت به شاهد افزایش یافت، ولی در سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری با شاهد ملاحظه نشد ($F=8.16$; $df= 4, 10$; $p<0.01$).

سنجش گلوتاتیون اس-ترانسفراز (GST)

پاسخ کلی آنزیم GST شته سبز گندم در تیمارهای مختلف متفاوت بود (شکل ۳). فقط در تیمارهای LC_{30} افوریا و تیاکلوپرید، افزایش فعالیت آنزیم نسبت به شاهد معنی‌دار به دست آمد. در دو تیمار مربوط به LC_{10} هر دو حشره‌کش تفاوت معنی‌داری با شاهد وجود نداشت ($F=11.61$; $df= 4, 10$; $p<0.01$).

سنجش استیل کولین استراز

فعالیت ویژه آنزیم استیل کولین استراز شته *S. graminum* در تیمارهای مختلف حشره‌کش اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت (شکل ٤) ($F=1.14$; $df= 4, 10$; $p=0.39$).

سنجش پروتئاز کل

تاثیر حشره‌کش‌های تیاکلوپرید و افوریا بر آنزیم پروتئاز شته سبز گندم باعث کاهش آنزیم شد و تفاوت معنی‌داری را بین تیمارها به وجود آورد (شکل ۵). بیش‌ترین فعالیت پروتئولیتیک شته سبز گندم در شاهد و کم‌ترین فعالیت آنزیمی مربوط به شته‌هایی بود که از گیاهان تیمار شده با LC_{30} تیاکلوپرید و LC_{30} افوریا تغذیه کرده بودند. علاوه بر این، تیمار LC_{10} افوریا با شاهد اختلاف معنی‌داری داشت ($F=25.03$; $df= 4, 10$; $p<0.01$).

سنجش آمیلاز

کم‌ترین فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز مربوط به شته‌های پرورش یافته روی گیاهان تیمار شده با LC_{30} افوریا بود. در بقیه موارد اختلاف معنی‌داری با شاهد مشاهده نشد (شکل ٦) ($F=7.86$; $df= 4, 10$; $p<0.01$).

بحث

در مطالعه حاضر برای اولین بار، اثرات کشنده و زیرکشنده حشره‌کش‌های تیاکلوپرید و افوریا روی شته *S. graminum* بررسی شد. پژوهشگران برای زیست‌سنجی از روش‌های مختلفی استفاده کرده‌اند (Gerami and Heidari. 2013; Zuo *et al*.. 2016). در این مطالعه از روش غوطه‌ورسازی برگ در محلول حشره‌کش برای شته‌ها (تکنیک متداول در ارزیابی اثر تماسی حشره‌کش‌ها) استفاده شد (Coon *et al*.. 2009). از آن‌جایی که LC_{50} افوریا برای شته سبز گندم ١/٠٤ برابر پایین‌تر از LC_{50} محاسبه شده برای تیاکلوپرید بود، این موضوع افوریا را بیش‌تر از حشره‌کش مورد مطالعه دیگر به عنوان شته‌کش معرفی می‌کند. در مطالعه حاضر، از غلظت‌های LC_{10} و LC_{30} دو حشره‌کش تیاکلوپرید و افوریا

استفاده شد، زیرا مقاومت حشرات آفت در برابر حشره‌کش‌ها در حال گسترش است و این مشکل با کاربرد نامناسب این ترکیبات شیمیایی تشدید می‌شود (Haddi *et al*.. 2012).

افوریا ترکیبی از دو حشره‌کش تیامتوکسام و لامبداسی‌هالوترین با نحوه تاثیر متفاوت است. تیامتوکسام با تقلید از نیکوتین، به گیرنده استیل کولین در غشای پس‌سیناپسی حشرات متصل می‌شود (Milar and Denholm. 2007). در حالی که لامبداسی‌هالوترین از بسته شدن دریچه کانال سدیم در غشای آکسون جلوگیری می‌کند. حساسیت حشرات مختلف به نوع و سطح فعالیت آنزیم‌های سم‌زدا و حساسیت جایگاه هدف بستگی دارد (Soderlund *et al*.. 2002). جمعیت‌های حساس و مقاوم گونه‌های مختلفی از شته‌ها و سفیدبالک‌ها به افوریا در مطالعات مختلف مقایسه شده‌اند (Golmohammadi *et al*.. 2014; Nikolova and Georgieva. 2018). همچنین، کارایی حشره‌کش افوریا روی *Bemisia tabaci* Gennadius و *Trialeurodes vaporariorum* West بررسی و نتایج نشان داد که افوریا از بقیه تیمارها اثر بیش‌تری روی پوره‌ها داشت (محمدی، ۱۳۹۵؛ عسگری، ۱۳۸۹). در مطالعه Deuchovskiene (2016) گزارش شد که تاثیر حشره‌کش افوریا روی شب‌پره پشت الماسی *Plutella xylostella* L. و سفیده کوچک کلم *Pieris rapae* L. نسبت به سایر تیمارها بیش‌تر بود.

حساسیت شته‌های مختلف به نئونیکوتینوئیدها به وسیله محققان مختلف ارزیابی شده است (رحمانی و همکاران، ۱۳۹۵؛ Ghadamyari *et al*.. 2008). در آزمایشی اثرات زیرکشنده حشره‌کش تیاکلوپرید روی جدول زندگی شته *Sitobion avenae* Fabricius بررسی و غلظت LC_{10} حشره‌کش مورد آزمایش اثر چندانی روی آفت نداشت. در حالی که پارامترهای دموگرافیک این آفت در غلظت میانی کشنده (LC_{50}) به طور معنی‌داری کاهش یافت (Miao *et al*.. 2013). در پژوهشی دیگر، توسط Taheri and Safavi (2013) میزان LC_{50} تیاکلوپرید روی شته مومی کلم *Brevicoryne brassicae* (L.) معادل ۲۷٤/۸۹ پی‌پی‌ام محاسبه شد که تا حدودی مشابه مقدار LC_{50} به دست آمده در تحقیق حاضر بود.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که پارامترهای جدول زندگی *S. graminum* به طور معنی‌داری تحت تاثیر غلظت‌های مورد مطالعه حشره‌کش‌های تیاکلوپرید و افوریا قرار گرفتند. همچنین نتایج جدول زندگی دوجنسی در مطالعه حاضر تایید کرد که افوریا روی r شته سبز گندم اثرات منفی بیش‌تری داشت. مقدار r شته سبز گندم تیمار شده با LC_{30} تیاکلوپرید حدود ٤٥ درصد در مقایسه با شاهد کاهش یافت. این مقدار کاهش در تیمار LC_{30} افوریا حدود ٦٥ درصد بود. اثرات منفی دو حشره‌کش مورد مطالعه در تحقیق حاضر روی پارامترهای دوره زندگی شته سبز گندم نیز بارز بود. به طور مثال، طول عمر شته‌های بالغ ماده در مقایسه با شاهد به طور معنی‌داری کاهش داشتند؛ زیرا زمانی که حشرات توسط حشره‌کش‌ها تیمار می‌شوند انرژی قابل توجهی صرف سم‌زدایی می‌شود و در نتیجه سرعت رشد حشره کاهش می‌یابد و نشوونمای آن به تاخیر می‌افتد (Devorshak and Roe. 1988). کاهش مقادیر r و R_0 عموما به خاطر دوره نشوونمایی طولانی و زادآوری کم می‌باشد. نظر به این که مبنای محاسبه r، نرخ بقا و زادآوری است بنابراین برای ارزیابی تاثیر کلی حشره‌کش‌ها از نرخ ذاتی افزایش جمعیت استفاده می‌شود (Stark and Wennergen. 1995). همچنین معیاری مناسب برای مقایسه توانایی تولیدمثلی جمعیت‌های مختلف است که تحت تاثیر عوامل متفاوتی از قبیل گونه حشرات، نوع میزبان، خاستگاه جغرافیایی، شرایط آب و هوایی و طول عمر حشره کامل می‌باشد (Infante. 2000). اثر حشره‌کش‌های مورد مطالعه روی عوامل تاثیرگذار در پارامتر r می‌تواند از دلایل کاهش شدید این پارامتر در شته سبز گندم باشد. از پارامترهای تاثیرگذار می‌توان به طول عمر حشره کامل اشاره کرد که در شته به طور معنی‌داری تحت تاثیر دو حشره‌کش قرار گرفت.

مطابق نتایج تحقیق حاضر، مقدار R_0 شته سبز گندم در تیمارهای زیرکشنده در مقایسه با شاهد کاهش پیدا کرد. این احتمال وجود دارد که زادآوری کم‌تر در افراد تیمار شده با غلظت LC_{30} دو حشره‌کش مورد مطالعه به کاهش نرخ خالص تولیدمثل منجر شده باشد. حشرات در تیمار LC_{30} حشره‌کش افوریا با پایین‌ترین میزان تخم‌گذاری و بقا، پایین‌ترین مقدار R_0 را دارا بودند. مطابق با نتایج به دست آمده، در همه تیمارها متوسط مدت زمان یک نسل حشره مورد آزمایش در مقایسه با شاهد افزایش پیدا کرد. افزایش در این پارامتر می‌تواند همزمانی فنولوژیکی بین شکار و شکارگر را به هم بزند و کارایی شکارگر را در کنترل بیولوژیک کاهش دهد (Hoddle. 2006). بین میزان تخم‌گذاری و طول عمر بندپایان نیز ارتباط بسیار نزدیکی وجود دارد (Fernandes *et al*.. 2010). در نتیجه، در مطالعه حاضر تاثیر حشره‌کش‌های مورد مطالعه در کوتاه شدن طول عمر حشرات بالغ می‌تواند یکی از دلایل کاهش میزان زادآوری آن‌ها باشد.

نتایج نشان داد که میزان فعالیت آنزیم آلفا–استراز شته *S. graminum* در هیچ یک از تیمارها تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت که نشان می‌دهد که حشره به منظور مقابله با اثرات این دو حشره‌کش، از آنزیم آلفا استراز استفاده نمی‌کند. در صورتی که میزان فعالیت آنزیم بتا–استراز شته سبز گندم در تیمار با LC_{30} هر دو حشره‌کش مورد آزمایش در مقایسه با شاهد افزایش یافت. بنابراین می‌توان اذعان نمود که تیمار با LC_{30} هر دو حشره‌کش، احتمال مقاومت متابولیکی شته نسبت به آن‌ها را افزایش می‌دهد. این موضوع همچنین نشان‌دهنده این است که واکنش‌های آنزیمی در شته وابسته به غلظت است و احتمال بروز مقاومت متابولیکی هنگامی که از غلظت کشنده ۳۰ درصد استفاده شود زیاد می‌باشد. استفاده از سوبستراهای مختلف در بسیاری مواقع فعالیت‌های متفاوتی از آنزیم را نشان می‌دهند. در یک بررسی، ضمن مقایسه جمعیت‌های مختلف پسیل آسیایی مرکبات (*Diaphorina citri* Kuwayama) با استفاده از آلفا–نفتیل استات به عنوان سوبسترا تفاوت‌های آماری معنی‌داری مشاهده نکردند، با این وجود ضمن استفاده از بتا–نفتیل استات تفاوت‌ها چشم‌گیر بود (Tiwari *et al*.. 2011).

تیمار LC_{30} حشره‌کش‌ها باعث افزایش فعالیت آنزیم GST شته سبز گندم شدند و تیمار LC_{10} هر دو حشره‌کش تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت. این آنزیم نقش مهمی در حفاظت از بافت‌ها در برابر واکنش‌های اکسایشی و سم‌زدایی بسیاری از مواد ناگوارد دارد (Fournier *et al*.. 1992). میانگین فعالیت آنزیم استیل کولین استراز بین تیمار حشره‌کش‌های مورد آزمایش و شاهد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت، که نشان‌دهنده عدم تاثیر آنزیم استیل کولین استراز در مقاومت متابولیکی شته سبز گندم نسبت به حشره‌کش‌های مورد آزمایش می‌باشد. با توجه به افزایش فعالیت بتا–استراز و GST شته سبز گندم در تیمار با LC_{30} افوریا و تیاکلوپرید، احتمال بروز مقاومت متابولیکی شته بر پایه استفاده از این دو آنزیم بیش‌تر از سایر تیمارها می‌باشد. در نتیجه، آنزیم‌های یاد شده در شته سبز گندم این قابلیت را دارند که به عنوان بیومارکر مورد توجه قرار گیرند.

فعالیت آنزیم پروتئاز شته سبز گندم در تیمار با حشره‌کش‌های مورد آزمایش در مقایسه با شاهد کاهش یافت، در حالی که فعالیت آمیلاز در این شته فقط در تیمار LC_{30} افوریا کاهش یافت و در بقیه تیمارها اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت. کاهش فعالیت پروتئازها ممکن است به دلیل تاثیر ترکیبات شیمیایی روی جدار سلول‌های معده و در نتیجه تولید آنزیم مهار شود و یا ممکن است ترکیبات شیمیایی، با پروتئازها کمپلکس تشکیل داده و مانع فعالیت آن‌ها شوند (Chapman. 1998). این تحقیق می‌تواند اطلاعات مفیدی برای کنترل شته سبز گندم به عنوان یکی از آفات اصلی گندم فراهم کند. تیاکلوپرید و افوریا می‌توانند گزینه مناسبی برای کنترل شته *S. graminum* باشند.

جدول ۱: حساسیت شته بالغ *Schizaphis graminum* به مقادیر LC_{50}، LC_{30}، LC_{10} حشره‌کش‌های تیاکلوپرید و افوریا

Table 1: Susceptibility of *Schizaphis graminum* adult to LC_{10}, LC_{30}, LC_{50} concentrations of Thiacloprid and Eforia

حشره‌کش‌ها	تعداد	غلظت ppm (محدوده اطمینان ۹۵٪)			$\chi2$ (درجه آزادی)	شیب خط± خطای معیار
		LC_{10}	LC_{30}	LC_{50}		
تیاکلوپرید	۳٦۰	۳۲/٤	۹۸/٥	۲۱۲/۷	۱۲/۸۲	۱/۹٥ ±۰/۲۹
		(۱٤/۰–٥۱/۰)	(٦۷/۲–۱۲٦/٦)	(۱٦۹/۱–۲۷۹/۸)	(۲)	
افوریا	۳٦۰	۳۱/٦۹	۹٥/۲۰	۲۰۳/۹٤	۱۳/۰۱	۱/٥۸ ±۰/۱۸
		(۰/۰٤–۷٥/٦۱)	(۷/۳٤–۱٦۸/۰۹)	(۹۹/۱٤–۷۰٥/٦٦)	(۳)	

$\chi2$ is significant ($p < 0.01$)

جدول ۲: میانگین (± خطای معیار) پارامترهای جدول زندگی دوجنسی شته *Schizaphis graminum* تیمار شده با LC_{10} و LC_{30} حشره‌کش‌های افوریا و تیاکلوپرید

Table 2: Mean (± standard error) bisexual life table parameters of *Schizaphis graminum* treated to LC_{10} and LC_{30} of thiacloprid and eforia

پارامتر (واحد)	تیاکلوپرید				افوریا	
	شاهد	LC_{10}	LC_{30}	LC_{10}	LC_{30}
r (بر روز)	۰/۳٦۲ ±۰۰۱a	۰/۲۹٥±۰/۰۰۱b	۰/۲۰۹±۰/۰۰۱d	۰/۲۳۱±۰/۰۰۰۳c	۰/۱۲۸±۰/۰۰۰٤e
R_0 (نتاج)	٤٥/۲۷±۰/۱٤a	۲۷/۲۹±۰/۱۰b	۱۲/۸٥±۰/۰٤c	۱۳/۸٦±۰/۰۲c	٤/۹۲±۰/۰٤d
T (روز)	۱۰/٥۱±۰/۰۱e	۱۱/۱۷±۰/۰۱d	۱۲/۱۷±۰/۰۱b	۱۱/۳٤±۰/۰۰۹c	۱۲/۳۷±۰/۰۰٦a
λ (بر روز)	۱/٤۳±۰/۰۰۱a	۱/۳٤±۰/۰۰۱b	۱/۲۳±۰/۰۰۱c	۱/۲٦±۰/۰۰۰٤c	۱/۱۳±۰/۰۰۰٤d

حروف غیر مشابه در یک ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است (بوت‌استرپ دوگانه، $p< 0.05$).

r: نرخ ذاتی افزایش جمعیت، R_0: نرخ خالص تولیدمثل، T: میانگین طول نسل، λ: نرخ متناهی افزایش جمعیت

Non similar letters in a row indicate a significant difference (Twopaired bootstrap, $p < 0.05$).
r: Intrinsic rate of increase, R_0: Net reproductive rate, T: Mean generation time, λ: Finite rate of increase

جدول ۳: میانگین (± خطای معیار) پارامترهای دوره زندگی شته *Schizaphis graminum* تیمار شده با LC_{10} و LC_{30} حشره‌کش‌های افوریا و تیاکلوپرید

Table 3: Mean (± standard error) life history parameters of *Schizaphis graminum* treated to LC_{10} and LC_{30} of thiacloprid and eforia

پارامتر (واحد)	تیاکلوپرید			افوریا	
	شاهد	LC_{10}	LC_{30}	LC_{10}	LC_{30}
نشوونمای پورگی (روز)	٥/۷۸±۰/۰۸c	٦/٦۲±۰/۱۲bc	۸/۳±۰/۰۹ab	۷/٦۱±۰/۱۱b	۹/۰۸±۰/۰۸a
طول عمر حشره ماده (روز)	۱٦/٦۰±۰/۷۹a	۱٤/٤٦±۰/۷۳b	۱۱/۲۰±۰/٤۸c	۱۳/۲۰±۰/٤۸b	۸/۲۰±۰/٤۸d
APOP (روز)	۰/۷٦±۰/۱٤a	۰/۷۰±۰/۱۱a	۰/٥۳±۰/۱۱a	۰/٦٦±۰/۱۲a	۰/٦٤±۰/۱۲a
زادآوری (نتاج/حشره ماده)	٥۱/۲۱±۰/۱۲a	۳۲/٦۷±۰/۰۹b	۱٦/٦۷±۰/۰٤c	۱۷/۰۹±۰/۰٤c	۷/۲٤±۰/۰۲d
دوره تخم‌گذاری	۱۱/۰۳±۰/۱٤a	۸/۹۳±۰/۱۷ab	٥/۸٦±۰/۱۷cd	٦/۰۳±۰/۱۲bc	۳/۰۳±۰/۱۲d

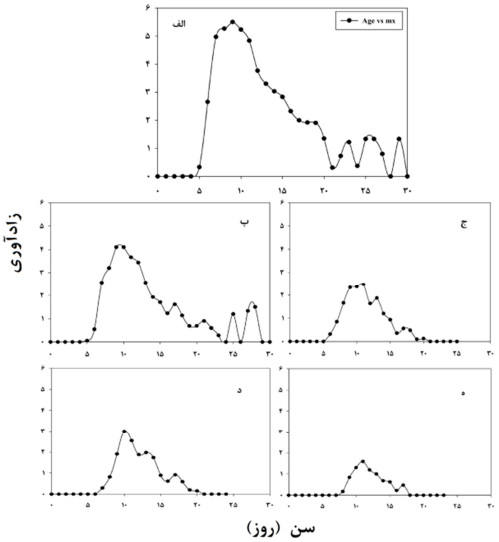
حروف غیر مشابه در یک ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است (بوت‌استرپ دوگانه، $p< 0.05$).

APOP: دوره پیش از تخم‌گذاری

Non similar letters in a row indicate a significant difference (Twopaired bootstrap, $p < 0.05$).
APOP: The preoviposition period

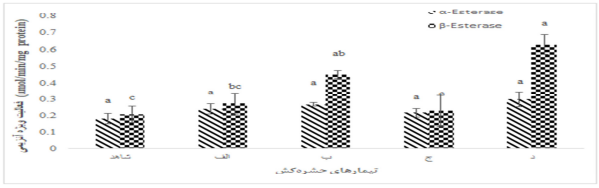
شکل ۱: زادآوری ویژه سنی (m_x) شته *Schizaphis graminum* در شاهد (الف)، LC_{10} تیاکلوپرید (ب)، LC_{10} افوریا (ج)، LC_{30} تیاکلوپرید (د) و LC_{30} افوریا (ه)

Figure 1: Age Specific fecundity (m_x) of *Schizaphis graminum* in control (A), LC_{10} thialcloprid (b), LC_{10} eforia (c), LC_{30} thiacloprid (d) and LC_{30} eforia (e).



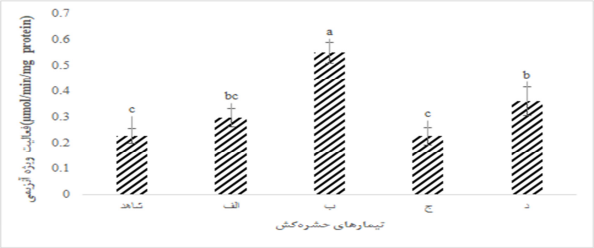
شکل ۲: فعالیت ویژه آنزیم‌های آلفا و بتا-استراز *Schizaphis graminum* با استفاده از سوبسترای آلفا نفتیل استات و بتا نفتیل استات در تیمارهای شاهد، LC_{10} تیاکلوپرید (الف)، LC_{30} تیاکلوپرید (ب)، LC_{10} افوریا (ج) و LC_{30} افوریا (د).

Figure 2: Specific activity of alpha and beta-estrase enzymes of *Schizaphis graminum* using alpha naphthyl acetate and beta naphthyl acetate substrates in control, LC_{10} thiacloprid (A), LC_{30} thiacloprid (b), LC_{10} eforia (c) and LC_{30} eforia (d).



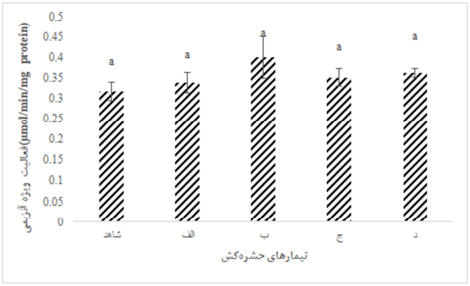
شکل ۳: فعالیت ویژه آنزیم گلوتاتیون اس-ترانسفراز *Schizaphis graminum* با استفاده از سوبسترای CDNB در تیمارهای شاهد، LC_{10} تیاکلوپرید (الف)، LC_{30} تیاکلوپرید (ب)، LC_{10} افوریا (ج) و LC_{30} افوریا (د).

Figure 3: Glutathione S-transferase enzyme specific activity of *Schizaphis graminum* using CDNB substrate in control, LC_{10} thiacloprid (A), LC_{30} thiacloprid (b), LC_{10} eforia (c) and LC_{30} eforia (d).



شکل ٤: فعالیت ویژه آنزیم استیل کولین استراز *Schizaphis graminum* با استفاده از سوبسترای استیل تیوکولین در تیمارهای شاهد، LC_{10} تیاکلوپرید (الف)، LC_{30} تیاکلوپرید (ب)، LC_{10} افوریا (ج) و LC_{30} افوریا (د).

Figure 4: Acetylcholinesterase enzyme specific activity of *Schizaphis graminum* using acetyl thioculin substrate in control, LC_{10} thiacloprid (A), LC_{30} thiacloprid (b), LC_{10} eforia (c) and LC_{30} eforia (d).

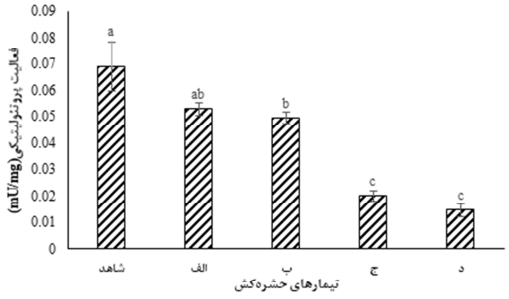


شکل ۵: میانگین فعالیت ویژه پروتئولیتیک کل عصاره آنزیمی شته بالغ *Schizaphis graminum* پرورش یافته روی گیاهان شاهد و تیمار شده با LC_{10} تیاکلوپرید (الف)، LC_{10} افوریا (ب)، LC_{30} افوریا (ج) و LC_{30} تیاکلوپرید (د).

Figure 5: Proteolytic enzyme specific activity of *Schizaphis graminum* adult grown on plants treated to control, LC_{10} thiacloprid (A), LC_{10} eforia (b), LC_{30} eforia (c) and LC_{30} thiacloprid (d).

شکل ٦: میانگین فعالیت ویژه آمیلولیتیک عصاره آنزیمی شته *Schizaphis graminum* پرورش یافته روی گیاهان شاهد و تیمار شده با LC_{10} تیاکلوپرید (الف)، LC_{10} افوریا (ب)، LC_{30} تیاکلوپرید (ج) و LC_{30} افوریا (د).

Figure 6: Amylolytic enzyme specific activity of *Schizaphis graminum* adult grown on plants treated to control, LC_{10} thiacloprid (A), LC_{10} eforia (b), LC_{30} thiacloprid (c) and LC_{30} eforia (d).



Referance

Ahmed, S., Nisar, M.S., Shakir, M.M., Imran, M. and Iqbal, K. 2014. Comparative efficacy of some neonicotinoids and traditional insecticides on sucking insect pests and their natural enemies on BT-121 cotton crop. The journal of animal and plant sciences. 24 (2): 660–663.

Annette, Z., Ismailzadeh Moghadam, M., Kashani, A. and Moradi, F. 1392. The trend of changes in grain yield and some physiological traits in wheat cultivars of spring bread introduced in the years 1330-1387 in Iran. Journal of Seed and Seedling Agricultural. 2 (4): 483-461. (In persian)

Asgari, Sh. 2010. Evaluation of effectiveness of the new insecticide, eforia and pyrethrum with common insecticides on the whitefly and *Bemisia tabaci* Gennadius. News-Research Technology Journal of the Research Institute of Country Plant Protection. Third year, third issue, page 18. (In persian)

Bernfeld, P. 1955. Amylase, a and b. Methods in Enzymology. 1: 149-154.

Blackman, R.L. and Eastop, V.F. 2006. Aphids on the world's herbaceous plants and shrubs. London: John Wiley & Sons publication. 1460 pp.

Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry. 72: 248- 254.

Carver, M. 1989. Biological control of aphids. pp. 141-165 in Minks, A. K. & Harrewijn, P. (Eds) Aphids, their biology, natural enemies and control. Vol. 2C, 322 pp. Amsterdam, Elsevier.

Chapman, R.F. 1998. The Insects Structure and function, 4th edition, Cambridge University Press, Cambridge, 782 pp.

Chi, H. 1988. Life-table analysis incorporating both sexes and variable development rates among individuals. Environmental Entomology. 17: 26-34.

Chi, H. 2015. TWOSEX-MSChart: Computer Program for Age-stage, Two-Sex Life Table Analysis.

Chi, H. and Liu, H. 1985. Two new methods for the study of insect population ecology. Bulletin of the Institute of Zoology, Academia Sinica. 24: 225-240.

Chi, H. and Yang, T. 2003. Two-sex life table and predation rate of *Propylaea japonica* Thunberg (Coleoptera: Coccinellidae) fed on *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae). Environmental Entomology. 32: 327-333.

Coon, M..J., Vaz, A.D. and Bestervelt, L.L. 1996. Peroxidative reactions of diversozymes. Fedration of American Soceities for Experimental Biology. 10: 428-434.

Dauterman, W.C. 1985. Insect metabolism: extramicrosomal. In: G.A. Kerkut and L.I. Gilbert (eds.), comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology. vol. 12, Pergamon, Oxford, pp. 713-730.

Deuchovskiene, L. 2016. The efficancy of different insecticides for control of Lepidopteran pests on cabbage in Lithuania. Scientific works of the Institute of Horticulture, Lithuanian research center for agriculture and forestry and Aleksandras Stulskinsis University. Sodininkyste Ir Darzininkyste. 35(3–4).

Devorshak, C. and Roe, R.M. 1998. The role of esterases in insecticide resistance. Reviews in Toxicology. 2: 501-537.

Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V.J. and Featherstone, R.M. 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochemical Pharmacology. 7: 88-95.

Elpidina, E.N., Vinokurov, K.S., Gromenko, V.A., Rudenshaya, Y.A., Dunaevsky, Y.E. and Zhuzhikov, D.P. 2001. Compartmentalization of proteinases and amylases in *Nauphoeta cinerea* midgut. Archives of Insect Biochemistry and Physiology. 48: 206-216.

Fernandes, F.L., Bacci, L. and Fernandes, M.S. 2010. Impact and selectivity of insecticides to predators and parasitoids. Entomology Bras. 3: 1-10.

Fournier, D., Bride, J.M., Poirie, M., Berge, J.B. and Plapp, F.W. 1992. Insect glutathione S-transferases, biochemical characteristics of the major forms of houseflies susceptible and resistant to insecticides. Journal of Biological Chemistry. 267: 1840-1845.

George, D., Ferry, N., Beak, E.and Gatehouse, A. 2008. Charcterization of midgut digestive proteases from the maize stem borer *Busseola fusca*. Pest Management Science. 64: 1151-1158.

Gerami, Sh. and Heidari, A. 2013. Effect of different bioassay methods on enzymatic characteristics of cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae). Journal of Agricultural Science and Technology. 3: 819-824.

Ghadamyari, M., Talebi, K., Mizuno, H. and Kono, Y. 2008. Oxydemeton-methyl resistance, mechanisms, and associated fitness cost in green peach aphids (Hemiptera: Aphididae). Journal of Economic Entomology. 101: 1432-1438.

Golmohammadi, G., Hosseinigharalari, A., Fasihi, M. and Arbabtafti, R. 2014. Efficacy of one botanical and three synthetic insecticides against silverleaf whitefly, *Bemisia tabaci* (Hem.: Aleyrodidae) on cucumber plants in the field. Journal of Crop Protrction. 3 (4): 435-441.

Habig, W.H., Pabst, M.J. and Jakoby, W.B. 1974. Glutathion S-transferase, the first step in mercapturic acid formation. The Journal of Biological Chemistry. 249: 7130-7139.

Haddi, K., Berger, M., Bielza, M., Cifuentes, P., Field, D.L.M., Gorman, K., Rapisarda, C., Williamson, M.S. and Bass, C. 2012. Identification of mutations associated with pyrethroid resistance in the voltage-gated sodium channel of the tomato leaf miner (*Tuta absoluta*). Insect Biochemistry and Molecular Biology. 42: 506-513.

Hayes, J.D. and Pulford, D.J. 1995. The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. Biochemistry Molocular Biology. 30: 445-600.

Hilder, V.A., Gatehouse, A.M.R. and Boulter, D. 1992. Transgenic plants conferring insect tolerance: protease inhibitor approach. In: Transgenic plants, Kung, S. and Wu, R., 33 310-338. Academic Press, New York, USA.Horie, Y. and Watanabe, H. 1980. Recent advances in sericulture. Annual Review of Entomology. 25: 49-71.

Hoddle, M.S. 2006. Phenology, life tables and reproductive biology of *Tetraleurodes perseae* (Hymenoptera:Aleyrodidae) on California avocados. Entomological Society of America. 99: 553-559.

Hyne, R.V. and Maher, W.A. 2003. Invertebrate biomarkers. Links to toxicities that predict population decline. Ecotoxicology Environmental Safety. 54: 366-374.

Infante, F. 2000. Development and population growth rates of *Prorops nasuta* (Hymenoptera:Bethylidae) at constant temperatures. Journal of Applied Entomology. 124-348.

Kammenga, J. and Laskowski, R. 2000. Demography in Ecotoxicology. John Wiley and Sons. 297 pp.

LeOra Software. 1987. POLO-PC: a User Guide to Probit or Logit Analysis. LeOra Software, Berkeley, California.

Miao, J., Du, Z.B., Wu, Y.Q., Gong, Z.J., Jiang, Y.L., Duan, Y., Lia, T. and Leib, C.L. 2013. Sublethal effects of four neonicotinoid seed treatments on the demography and feeding behaviour of the wheat aphid *Sitobion avenae*. Pest Managment Science. 70: 55–59.

Millar, N.S. and Denholm, I. 2007. Nicotinic acetylcholine receptors: targets for commercially important insecticides. Invertebrate Neuroscience. 7: 53–66.

Mingjing, Q., Zhaojun, H., Xinjun, X. and Lina, Y. 2003. Triazophos resistance mechanisms in the rice stem borer (*Chilo suppressalis* Walker). Pesticide Biochemistry and Physiology. 77: 99-105.

Mohammadi, Gh. 2016. Lethal effect of eforia and movento on *Trialeurodes vaporariorum* Westwood (Hem.: Aleyrodidae). Master thesis, Agricultral entomology, Urmia Agriculture University. 120 pages. (In persian)

Nikolova, I.M. and Georgieva, N.A. 2018. The effects of a synthetic insecticide and a mineral oil on alfalfa insect pests. Journal Pesticides and Phytomedicine. 33 (3-4): 221–231.

Oliveira-Neto, O., Batista, J.A.N. and Rigden, D.J. 2003. Molecular cloning of α- amylase from the cotton ball weevil, *Anthonomus grandis* and structural relations to plant inhibitors: an approach to insect resistance. Journal of Protein Chemistry. 22: 77-87.

Pasini, R.A., Grützmacher, A.D., Pazini, J.D.B., Armas, F.S.D., Bueno, F.A. and Pires, S.N. 2018. Side effects of insecticides used in wheat crop on eggs and pupae of *Chrysoperla externa* and *Eriopis connexa*. Phytoparasitica. 46:115-125.

Purhematy, A., Ahmadi, K. and Moshrefi, M. 2013. Toxicity of thiacloprid and fenvalerate on the black bean aphid, *Aphis fabae*, and biosafety against its parasitoid, *Lysiphlebus fabarum*. Journal of Biopesticides. 6 (2): 207-210.

Rahmani, Sh., Bandani, A. and Azimi, S. 2016. The effect of thiamoxam and pirimicarb insecticides on the detoxifying enzymes activity of black bean aphid. Genetic and Biosafety Engineering. 5 (2): 143-153. (In persian)

Soderlund, D.M., Clark, J.M., Sheets, L.P., Mullin, L.S., Piccirillo, V.J., Sargent, D., Stevens, J.T. and Weiner, M.L. 2002. Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: Implications for cumulative risk assessment. Toxicology. 171 (1): 3–59.

Stark, J.D. and Wennergren, U. 1995. Can population effects of pesticides be predicted from demographic toxicological studies? Journal of Economic Entomology. 88: 1089-1096.

Stark, J.D., Sugayama, R.I. and Kovaleski, A. 2007. Why demographic and modeling approaches should be adopted for estimating the effects of pesticides on biocontrol agents. Biocontrol. 52: 365–374.

Taheri Sarhozaki, M. and Safavi, S.A. 2013. Population growth parameters of the cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera: Aphididae), exposed to sublethal doses of thiacloprid. Archives of Phytopathology and Plant Protection. 47 (4): 464-471.

Thomas, J.C., Wasmann, C.C., Echt, R.L., Dunn, H.J. and McCoy, T.J. 1994. Introduction and expression of an insect proteinase inhibitor in alfalfa (*Medicago sativa*). Plant Cell Reports. 14: 31-36.

Tiwari, S., Mann, R.S., Rogers, M.E. and Stelinski, L.L. 2011. Insecticide resistance in field populations of asian citrus psyllid in Florida. Pest Management Society. 67: 1258–1268.

Van Asperen, K. 1962. A study of housefly esterases by means of a sensitive colorimetric method. Journal of Insect Physiology. 8: 401-416.

van Emden, H., Fritz, H. and Harrington, R. 2007. Aphids as Crop Pests. CABI. p. 19. ISBN 978-1-84593-202-2.

Vontas, J.G., Small, G.J. and Hemingway, J. 2001. Glutathione S-transferases as antioxidant defence agents confer pyrethroid resistance in *Nilaparvata lugens*. Biochemistry Journal. 357: 65-72.

Wang, J., Cheng, W., Ding, W. and Zhao, Z. 2004. The effect of the insecticide dichlorvos on esterase activity extracted from the psocids, *Liposcelis bostrychophila* and *L. entomophila*. Journal of Insect Science. 4: 23-28.

Zuo, Y., Wang, K., Zhang, M., Peng, X., Jaime, C. and Chen, M. 2016. Regional susceptibilities of *Rhopalosiphum padi* (Hemiptera: Aphididae) to ten insecticides. Florida Entomologist. 99(2): 269-275.

Journal of Entomological Research
Volume 12, Issue 2, pages: 83-101

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

Effect of Thiacloprid and Eforia on the life table parameters and detoxification enzymes activity in wheat aphid, *Schizaphis graminum* (Rondani)

P. Aeinehchi[1], B. Naseri[2*]

1- Ph.D. Graduate of Agricultural Entomology, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
2-Professor of Agricultural Entomology, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

Abstract

The greenbug, *Schizaphis graminum* Rondani (Hem.: Aphididae) is one of the most important pests of wheat plants can restrict the production of this crop by sucking on the sap and transmistting pathogenic viruses. Detoxifying enzymes play a very important role in detoxifying chemical compounds in many living organisms. These enzymes exposed to chemical compounds are as biomarkers, and they have varying degrees of sensitivity to chemical compounds due to biochemical differences in pesticide detoxification. In the study, bioassays were examined by immersing wheat leaves in its insecticidal solution at a temperature of 27±2°C, a relative humidity of 65 ±10% and 16 hours light and 8 hours darkness photoperiod. The sublethal concentrations effect (LC_{10} and LC_{30}) of thiachlopride and aforia has been evaluated on the life table parameters and the detoxifying enzymes activity of *S. graminum*. Esterase, glutathione S-transferase and acetylcholinesterase activity were measured as detoxifying enzymes. According to the obtained results, the lethal mean concentrations were calculated 212.7 and 203.9 mg (ai) L^{-1} for aphids exposed to thiacloprid and eforia, respectively. Among the treatments, LC_{30} concentration was the highest toxicity compared with other treatments. The LC_{30} concentration effects of both insecticides were significantly increased the induction of beta-esterase and glutathione S-transferase (GST) enzymes of *S. graminum.* Also, the activity of alpha-esterase and acetylcholinesterase did not significant different with increasing sublethal concentrations than control. The results showed that the sublethal concentrations of the two incecticides, thiacloprid and eforia, had a negative effect on the life tables parameters of *S. graminum* and they can be identified by detoxifying enzymes as biochemical markers.

Keywords: *Schizaphis graminum*, Thiacloprid, Eforia, Detoxifying enzymes, Life table parameters

* Corresponding Author, E-mail*: Pezhmanaynechi68@gmail.com*
Received:28 Apr. 2020 – Accepted: 5 Sep. 2020