

# Effect of Nutritional Supplements on Some Biological and Physiological Parameters of *Graphosoma lineatum* L.

## Abstract

### Introduction

The striped bug, *Graphosoma lineatum* L. is one of the pests of Apiaceae family such as parsley, carrot, celery and some medicinally important plants. The adults and nymphs of this insect feed on seeds of host plants. The eggs of the striped bug have an important role in mass rearing program of some parasitoids. Nutritional supplements undertake an essential function in mass rearing of insects and increase the efficiency of production. Vitamins such as B group have different functions in physiology of insects. Growth and development of insects depend on essential nutrients which have to receive them via food materials. Essential amino acids and some minerals are other parts of nutritional materials which need to be utilized by insects and must be obtained from food materials. Delayed growth, weight loss, prolonging immature stages, increasing mortality, some deformities in wings, change in mating and behaviors and some physiological problems are symptoms of deficiency in nutritional materials and vitamins reported in different researches. In this study the effects of some vitamins and amino acids on anatomy of salivary glands, total protein of body, developmental time and fecundity of *G. lineatum* were evaluated in controlled conditions.

### Material and methods

Insects reared on parsley seeds adhered on the inner side of big plastic containers in controlled condition. Supplements including vitamins B<sub>12</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>1</sub> and Serine and Phenylalanine amino acids selected for evaluation. These supplements used for the treatment of *G. lineatum* in four different concentrations dissolved in water. For evaluating the effects of nutritional supplements on anatomy of salivary glands, both glands separate after dissection of adult's thorax, and dimension of glands including width and length of posterior and anterior lobes, measured by micrometer apparatus located on stereomicroscope. Total body protein measured by Kjeldahl apparatus after well drying the total body of insects in oven followed by fine powder of dry materials. Total protein calculated as multiplying the nitrogen amounts in 6.38 (a constant number) as a standard method. In separate experiments, the effect of nutritional supplements on each nymphal stage duration studied. One day old eggs used for this purpose, after justifying treatments the time required for developing each instar recorded daily. All tests replicated three times and distilled water were used for control treatment. The data were analyzed by One-way ANOVA experimental randomized design and Duncan's multiple range test using SAS software used for comparing the means.

### Results and discussion

The results revealed that all vitamins and amino acids significantly affected all studied parameters. In the case of salivary glands, especially posterior lobe of them more affected in insects fed by B<sub>1</sub>, B<sub>6</sub> and Phenylalanine. Different concentrations of vitamin B<sub>6</sub>, B<sub>1</sub> and Phenylalanine affected total protein content of male and female insect's body. Vitamin B<sub>12</sub> had non-significant effect on male and female total body protein. Nutritional supplements changed the rate of laid and hatched eggs in addition with nymph's developmental time. Vitamin B<sub>12</sub> in the concentration of 0.005 g/l, B<sub>6</sub> in the concentration of 0.25 g/l, B<sub>1</sub> in the concentration of 0.5 g/l, Serine and Phenylalanine both in the concentration of 0.5 g/l showed the highest rate of laid and hatched eggs. Vitamin B<sub>6</sub> and B<sub>1</sub> in the concentration of 1 and 1.5 g/l resulted in prolonging the nymph's life span in comparing with controls. The negative effects of high concentrations of nutritional supplements on fecundity and normal developmental period of nymphs well documented in this study. Metabolism, cell division, hormone synthesis, enzymes activity and many physiological parameters affects by supplements especially vitamins. Any disorder in utilization, absorption and inhibition of their function leads to biological and behavioral problems in insects. In some cases, the function of symbionts for compensation essential supplements documented.

### Conclusions

The results of this study indicate important function of vitamins B<sub>12</sub>, B<sub>6</sub> and B<sub>1</sub> on *G. lineatum* nymphal developmental period. In high concentrations, rate of growth decreased in comparison with controls. Salivary glands anatomy showed some changes in dimensions especially in posterior lobes in dose-depending manner. Number of eggs laid and hatched decreased especially in high concentrations of nutritional supplements. The results of this study will help to justify better meridic diet for rearing striped

bug. In semi-artificial diets for rearing this insect, corporation of little concentrations (optimum) will improve the fitness of insects.

**Key words:** biological parameters, phenylalanine, salivary glands, vitamin B

نسخه  
پایان  
انتشار

## تاثیر مکمل غذایی بر چند ویژگی فیزیولوژیک و زیست‌شناختی سن نواری چتریان، *Graphosoma lineatum* L.

رضا فرشباف پورآباد\*، هانیه اسرانی اسدی، داود محمدی

گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

\*-rfpourabad@yahoo.com

### چکیده

سن نواری چتریان *Graphosoma lineatum* L. یکی از آفات مهم گیاهان تیره چتریان است. حشرات کامل و پوره‌های این سن از بذر گیاهان میزبان خود تغذیه می‌کنند. از تخم‌های این حشره برای تولید انبوه زنبورهای پارازیتوئید نیز استفاده می‌شود. در پرورش انبوه حشرات مکمل‌های غذایی نقش بسزایی در افزایش کارایی تولید دارند. در این بررسی تأثیر برخی ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه بر ریخت‌شناسی غده بزاقی، میزان پروتئین کل بدن، طول دوره رشدی و زادآوری این حشره در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. سن‌ها بر روی بذرهای گیاه جعفری که به دیواره داخلی ظروف پرورش چسبانده شده بودند پرورش یافتند. مکمل‌های مورد مطالعه شامل ویتامین‌های B<sub>1</sub>، B<sub>6</sub>، B<sub>12</sub> و اسید آمینه‌های سرین و فنیل آلانین بودند. این مکمل‌ها به صورت محلول در آب مورد استفاده برای پرورش سن، در چهار غلظت مختلف مورد استفاده قرار گرفتند. برای بررسی تأثیر مکمل‌ها بر غدد بزاقی، پس از تشریح و خارج کردن این غدد ابعاد آن‌ها شامل طول و عرض لوب‌های جلویی و عقبی با استفاده از استریومیکروسکوپ و میکرومتر اندازه‌گیری شد. پروتئین کل بدن با روش کلدال پس از خشک کردن حشرات در تیمارهای مختلف اندازه‌گیری شد. در بررسی دیگری، طول دوره رشدی پنج سن پورگی سن نواری چتریان تحت تأثیر مکمل‌های غذایی مختلف اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که مورفولوژی غدد بزاقی تحت تأثیر مکمل‌های غذایی تغییرات معنی‌داری پیدا کرد. ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه مورد استفاده بیشتر لوب عقبی غدد بزاقی را تحت تأثیر قرار دادند و کاهش معنی‌داری در ابعاد لوب‌های غدد بزاقی در مقایسه با شاهد ثبت گردید. همچنین، غلظت‌های مختلف ویتامین‌های B<sub>1</sub>، B<sub>6</sub> و اسید آمینه فنیل آلانین بیشترین تأثیر را روی میزان پروتئین کل بدن حشرات نر و ماده داشتند. ویتامین B<sub>12</sub> روی تغییر درصد پروتئین کل بدن در دو جنس نر و ماده تأثیر معنی‌داری نداشت ولی درصد پروتئین کل بدن در غلظت‌های بالا از غلظت‌های پایین بیشتر بود. نتایج بررسی‌های زیستی نیز نشان داد که افزودن مکمل‌های غذایی روی میانگین تعداد تخم‌های گذاشته شده و تفریح شده و طول دوره‌های سنین پورگی تأثیر معنی‌داری داشت. مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف مکمل‌های غذایی نشان داد که تغذیه از ویتامین‌های B<sub>12</sub>، B<sub>6</sub> و B<sub>1</sub> به ترتیب با غلظت‌های ۵، ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر و اسیدهای آمینه سرین و فنیل آلانین با غلظت ۰/۵ گرم بر لیتر بالاترین زادآوری و درصد تفریح تخم را داشتند. میزان تفریح تخم‌ها در مقایسه با تیمار شاهد در تمام تیمارها کاهش نشان داد. با مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف تیمارهای به کار رفته، غلظت بالای ویتامین‌های B<sub>6</sub> و B<sub>1</sub> (۱ و ۱/۵ گرم بر لیتر) باعث افزایش طول دوره‌های پورگی گردید. در مطالعه حاضر مشخص گردید که تغذیه از برخی مکمل‌های غذایی بر درصد تفریح تخم‌ها و طول دوره رشدی سن نواری چتریان تأثیر منفی داشت.

**کلمات کلیدی:** سرین، فراسنجه‌های زیستی، فنیل آلانین، غدد بزاقی، ویتامین B

### مقدمه

مواد غذایی مورد استفاده حشرات از لحاظ کمیت و کیفیت باید نیازهای غذایی آن‌ها را تامین و رشد و تولید مثل حشره را تضمین نماید. این مواد غذایی اغلب توسط تغذیه وارد بدن می‌شوند که یا به‌طور مستقیم یا بر اثر واکنش‌های آنزیمی و

متابولیسمی تغییر می‌یابد و مورد استفاده قرار می‌گیرند. هر چند کربوهیدرات‌ها به‌عنوان منبع اصلی انرژی حشرات گیاه‌خوار شناخته شده‌اند ولی پروتئین‌ها و لیپیدها نیز در نشوونمای حشرات نقش مستقیمی دارند. در این بین برخی مواد معدنی، ویتامین‌ها و املاح هستند که، هر چند به‌مقدار اندک مورد نیاز هستند، اما نشوونما و تولید مثل حشرات وابسته به آن‌هاست (Kraus et al., 2019; Genc, 2006). ویتامین‌ها به‌عنوان مهم‌ترین بخش از گروه‌های مختلف مواد غذایی، هر چند به مقدار بسیار کم مورد نیاز هستند، ولی بدون دریافت آنها زیست‌شناسی و فیزیولوژی حشرات دچار اختلال خواهد شد. این گروه از مواد غذایی یا مستقیماً از طریق تغذیه، سنتز و یا با استفاده از همزیست‌های حشرات دریافت می‌شوند. ویتامین‌ها به دو گروه قابل حل در آب و قابل حل در چربی تقسیم می‌شوند. ویتامین‌های قابل حل در آب مانند ویتامین‌های گروه B نمی‌توانند در بدن ذخیره شوند و پیوسته باید تامین شوند (Kraus et al., 2019). بیشتر حشرات برای نشوونما به ویتامین‌های قابل حل در آب نیاز دارند (Genc, 2006). این ویتامین‌ها شامل تیامین (B<sub>1</sub>)، ریوفلاوین (B<sub>2</sub>)، اسید نیکوتینیک (B<sub>3</sub>)، پیریدوکسین (B<sub>6</sub>)، اسید پانتوتینیک، اسید فولیک و بیوتین برای نشوونما و تولید مثل حشرات ضروری هستند و نقش‌های مختلفی مانند کوآنزیم، افزایش متابولیسم، مقابله با تنش‌های زیست‌محیطی، رفتار و دیابوز به آن‌ها نسبت داده شده است (Cohen, 2015; Douglas, 2017; Genc, 2006). مشخص شده که تیامین، ریوفلاوین و نیاسین در بیوسنتز ATP نقش دارند. همچنین ویتامین‌های پانتوتنات در انتقال گروه آسیل، و بیوتین و فولیک اسید به‌عنوان فاکتور رشد در حشرات نقش دارند (Kraus et al., 2019).

در بررسی‌های مختلف، ضرورت وجود ویتامین‌های گروه B برای نشوونمای عادی پشه‌ها (Kleinjan and Dadd, 1977) و B<sub>6</sub> برای رشد مناسب غدد ابریشم‌ساز، توازن اسیدهای آمینه همولف و دفع عادی اسید اوریکی در کرم ابریشم (Hori et al., 1966) گزارش شده است. فاروکی (Faruki, 2005) اظهار کرد که ویتامین B<sub>6</sub> در متابولیسم پروتئین‌ها به‌عنوان کوآنزیم نقش دارد و باعث افزایش رشد حشرات می‌شود. فقدان ویتامین B<sub>12</sub> در غذای حشرات رشد را کند و میزان طول عمر حشرات کامل را کاهش می‌دهد (Genc, 2006; Dadd, 1985). در برخی حشرات، برخی ویتامین‌های گروه B توسط همزیست‌های دستگاه گوارش سنتز می‌شوند (Salem et al., 2014). ویتامین B در حشرات نقش دفاعی نیز دارد (Yoshii et al., 2019). ویتامین B<sub>1</sub> یا تیامین در سنتز ATP و تولید انرژی در حشرات نقش بسیار مهمی را بر عهده دارد (Serrato-Salas and Gendrin, 2022).

پروتئین‌ها نیز به‌عنوان ترکیبات حیاتی که نقش‌های بسیار متنوعی را در بدن موجودات زنده ایفا می‌کنند شناخته شده‌اند. نقش‌های مختلف ساختمانی، منبع انرژی، عامل اصلی حرکت، انتقال ترکیبات مختلف در خون یا همولف، هورمون‌ها، آنزیم‌ها، گیرنده‌های مختلف، دیابوز، فرمون‌ها و رفتار و تمام واکنش‌های متابولیسمی بدن حشرات به نوعی با پپتیدها، اسیدهای آمینه و یا پروتئین‌ها در ارتباط هستند (Zanotto et al., 2010; Kraus et al., 2019). ارزش غذایی یک ماده پروتئینی تابع ترکیب کیفی و کمی اسیدهای آمینه آن می‌باشد. نیاز به اسیدهای آمینه بر حسب گونه و مرحله زیستی حشره فرق می‌کند (Li et al., 2020). آرژنین، هیستیدین، لوسین، ایزولوسین، لایزین، متیونین، فنیل آلانین، ترئونین، تریپتوفان و والین اسیدهای آمینه ضروری بدن هستند که فقدان هر کدام از این اسیدهای آمینه باعث اختلال در نشوونمای حشرات می‌شود (Mirth et al., 2020). آلانین و سرین دو اسید آمینه دیگر هستند که برای رشد مطلوب اغلب حشرات ضروری می‌باشند (Liu et al., 2017). مطالعاتی که روی سوسری آمریکایی، *Periplaneta Americana* (Linnaeus, 1758) انجام گرفت نشان داد که با کم کردن پروتئین از رژیم غذایی این سوسری، طول عمر آن در مقایسه با شاهد کاهش یافت (Genc, 2006). پروتئین‌ها همچنین در ساخت و استحکام جلد بدن حشرات نقش بسیار مهمی دارند (Merzendorfer and Zimoch, 2003).

روبل و همکاران (Robel et al., 1995) میزان پروتئین کل برخی سن‌های خانواده Miridae را بیشتر از ۷۰ درصد وزن خشک بدن و سن‌های بذرخوار دو خانواده Lygaeidae و Delphasidae را ۵۴-۵۶ درصد وزن خشک بدن گزارش

کردند. میانکبا و همکاران ([Miankeba et al., 2022](#)) درصد پروتئین کل بدن حشرات مختلف مورد بررسی را ۴۳ الی ۵۳ درصد وزن خشک گزارش کردند که عدد قابل تامل و بزرگی است. این موضوع موید اهمیت پروتئین در بدن حشرات است. گزارش شده است که وجود ویتامین‌های مختلف در غذای حشرات اثرات معنی‌داری بر تجمع پروتئین در بدن آنها دارد. مشخص گردیده است که اسید فولیک، اسید نیکوتینیک و بیوتین باعث افزایش سطوح پروتئین زنبور *Pimpla turionella* (L) شده و با کاهش دوزهای کلسیم پانتوتنات و پایریدوکسین از میزان پروتئین کل بدن کاسته شد ([Sulanc and Emre, 2000](#)).

غدد بزاقی سن نواری چتریان از نظر شکل و ساختار بسیار متنوع هستند، با وجود این یک ویژگی مشترک دارند یعنی در هر طرف بدن یک غده اصلی و یک غده ضمیمه وجود دارد. این غدد معمولاً در قفس سینه و در دو طرف روده قرار دارند اما ممکن است در داخل سر قرار گرفته و یا وارد فضای شکم شوند. در گونه‌های مختلف ممکن است نسبتاً ساده یا به شدت پیچیده و منشعب باشند ([Baptist, 1941](#)). بنا به اظهار هوری ([Hori, 1967](#))، اندازه غدد بزاقی *Lygus disponsi* Linnavuori, 1961 در مراحل مختلف نشوونمایی متفاوت است. غدد بزاقی در سن‌ها که قطعات دهانی مکنده دارند نقش بسیار مهمی در امر تغذیه دارند. با توجه به ماهیت قطعات دهانی و هضم خارج دهانی، وجود بزاق به‌عنوان مرطوب کننده، نرم کننده، حل کننده، رقیق کننده و گوارش دهنده اهمیت بسیار زیادی دارد ([Azevedo et al., Reis et al., 2003](#)); [Emilano and Bonning, 2020](#); [2007](#)). غدد بزاقی نقش‌های مختلف دیگری نیز در حشرات مختلف دارند: تولید تارهای ابریشمی، تولید فرمون‌ها، تنظیم فشار اسمزی، دفاع در مقابل ترکیبات سمی و بیمارگرها و ضد انعقاد خون به-عنوان نقش‌های مختلف این غدد گزارش شده‌اند ([Azevedo et al., 2007](#); [Martínez et al., Ribeiro, 1995](#)); [Celerio-Mancera and Labavitch, 2016](#); [2014](#)). در صورت صدمه دیدن و یا هر تغییری در غدد بزاقی نقش آن‌ها دچار اختلال می‌شود و حشرات از نظر فیزیولوژیک، رفتاری و زیستی دچار اختلال خواهند شد ([Ramm et al., 2015](#)); [Castellanos et al., 2017](#)). با توجه به این که در سن‌ها غدد بزاقی از قسمت‌های مختلف تشکیل شده‌اند و هر کدام نقش‌های متفاوتی را در ترکیب نهایی بزاق بر عهده دارند، بروز هر گونه تغییر مورفولوژیک و یا ناهنجاری در ساختمان این غدد می‌تواند بسته به مرحله زیستی حشره به ایجاد اختلال در ایفای نقش این غدد منجر شود ([Cossolin et al., 2019](#)); [Koçakoğlu and Candan, 2022](#).

سن *Graphosoma lineatum* از آفات مهم تیره چتریان مانند جعفری، گشنیز و هویج می‌باشد که در ایران از استان‌های مختلفی گزارش شده است. همچنین از این سن در پرورش انبوه زنبورهای پارازیتوئید سایر سن‌ها مانند سن گندم به-عنوان میزبان آزمایشگاهی استفاده می‌شود ([Roversi et al., 2018](#)). با توجه به این مطلب، در بررسی حاضر، اثر تغذیه از مکمل‌های غذایی شامل چند ویتامین و اسید آمینه روی ریخت‌شناسی غده بزاقی و نیز میزان پروتئین کل بدن در حشرات کامل نر و ماده این سن مورد بررسی قرار گرفت. همچنین، اثر آنها بر برخی ویژگی‌های زیستی مانند طول دوره رشدی، زادآوری ماده‌ها و درصد تفریح تخم‌ها نیز مورد مطالعه قرار گرفت.

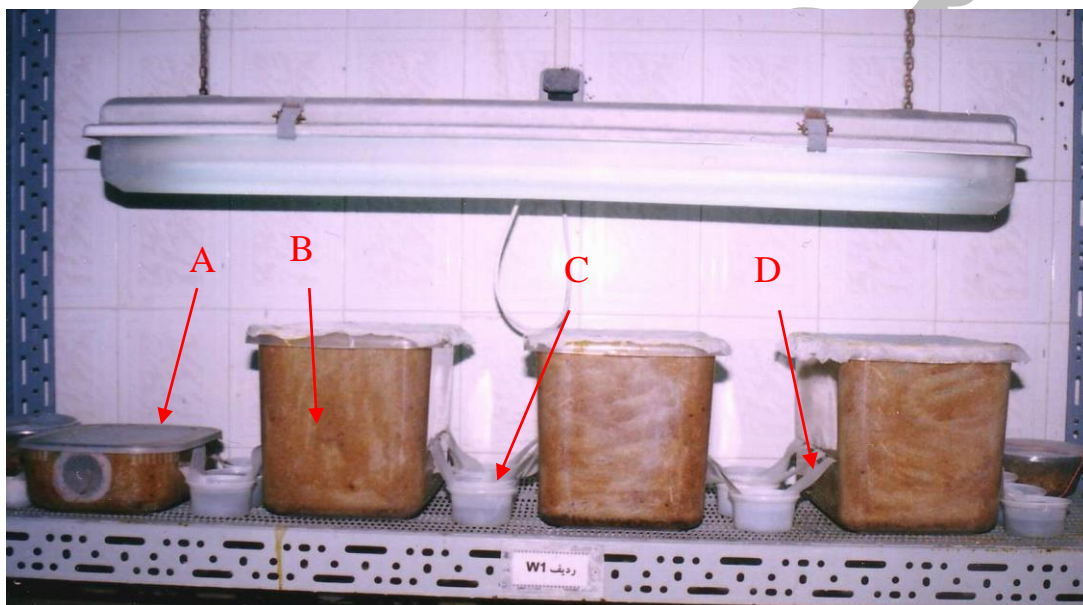
## مواد و روش‌ها

### پرورش سن نواری چتریان

حشرات کامل سن نواری چتریان از کلنی پرورشی در انسکتاریوم گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه تبریز تهیه و یک کلنی جدید شکل گرفت. قبل از انجام آزمایش‌های اصلی، حشره تا پنج نسل بر روی دانه‌های جعفری خالص‌سازی شد. ابتدا دانه‌های جعفری جهت ایجاد یکنواختی الک شدند. سپس جهت حذف ناخالصی‌ها و دانه‌های پوک، داخل آب ریخته شده و بلافاصله پس از حذف ناخالصی‌های سطحی، دانه‌های باقیمانده در کف ظروف در شرایط آزمایشگاهی در مدت ۲۴ ساعت خشک شدند. دانه‌های آماده شده جهت مصارف بعدی در ظروف سر بسته نگهداری شدند. جهت پرورش

حشرات از ظروف پلاستیکی درپوش دار مات به ابعاد  $30 \times 22 \times 8$  سانتی متر (ظروف پرورش) و  $45 \times 32 \times 30$  سانتی متر (ظروف تخم گیری) استفاده شد. به منظور ایجاد تهویه در ظروف پرورشی، بخشی از سطح فوقانی درپوش برداشته و با پارچه توری مسدود گردید (شکل ۱). در دیواره های طولی و در ارتفاع ۴ سانتی متری از کف ظروف چهار شکاف افقی به طول ۴ سانتی متر و عرض یک میلی متر تعبیه گردید که محل قرار دادن نوارهای کاغذ صافی به طول ۱۵ و عرض ۵ سانتی متر بود. یک سانتی متر از این نوارها از طریق شکاف به داخل ظروف پرورش وارد می شد. نوارهای کاغذ صافی با جذب آب از ظروف پلاستیکی آب مورد نیاز سن ها را در اختیار آن ها قرار می دادند.

جهت تغذیه پوره ها و حشرات کامل از دانه ها جعفری، چسب طبیعی سریشم به صورت یک لایه یکنواخت به کف و دیواره های داخلی ظروف پرورش مالیده می شد و دانه های جعفری در داخل ظروف ریخته می شدند و طوری عمل می گردید تا تمام سطوح داخلی آن ها با دانه های جعفری پوشانیده شود. سپس اجازه داده می شد تا سریشم در مجاورت هوای آزاد خشک شود. ظروف مورد استفاده هر ۱۵ روز یک بار تعویض می شدند. شرایط پرورش در انسکتاریوم شامل دمای  $25 \pm 2$  درجه سلسیوس، رطوبت نسبی  $5 \pm 60$  درصد و دوره نوری ۱۶:۸ (L:D) ساعت بود (Yazdanian et al., 2011).



شکل ۱- ظروف پلاستیکی مورد استفاده در پرورش آزمایشگاهی سن *Graphosoma lineatum*: (A) ظروف پرورش، (B) ظروف تخم گیری، (C) ظرف آب مقطر، (D) فیلتر کاغذی تعبیه شده

Figure 1- Plastic containers used for laboratory rearing of *G. lineatum*: (A) Rearing plastic container; (B) egg harvesting container, (C) Distilled water container; (D) Filter paper

### مکمل های غذایی مورد بررسی

در این پژوهش از ویتامین های B<sub>1</sub> (تیامین)، B<sub>6</sub> (پایریدوکسین) و B<sub>12</sub> (کوبال آمین) و اسیدهای آمینه سرین و فنیل آلانین استفاده شد که همگی حالت پودری داشتند.

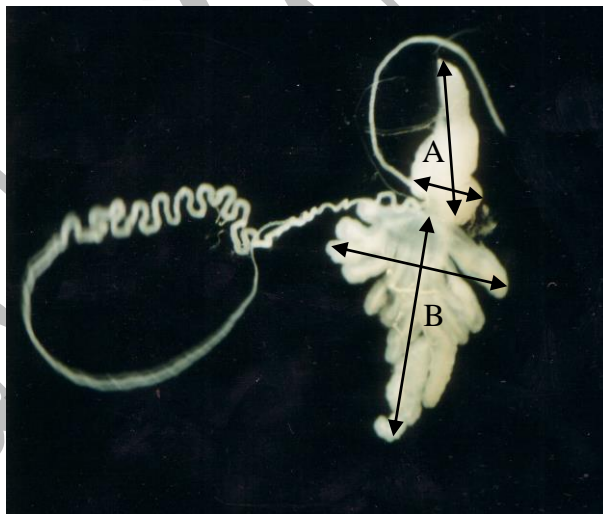
ویتامین ها و اسیدهای آمینه ذکر شده هر کدام در ۴ غلظت و ۴ تکرار مورد استفاده قرار گرفتند و برای هر کدام یک تیمار شاهد (آب مقطر) در نظر گرفته شد. ویتامین B<sub>1</sub> در غلظت های ۰/۵، ۰/۷۵، ۱ و ۱/۵ گرم در لیتر، ویتامین B<sub>6</sub> در غلظت های ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ گرم در لیتر، ویتامین B<sub>12</sub> در غلظت های ۰/۰۰۵، ۰/۰۱، ۰/۰۱۵ و ۰/۰۲ گرم در لیتر و اسیدهای آمینه سرین و فنیل آلانین هر دو در غلظت های ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ گرم در لیتر مورد استفاده قرار گرفتند. غلظت های مختلف ویتامین ها و اسیدهای آمینه در آب مقطر تهیه شدند. سپس در اختیار پوره های سن اول به بعد سن قرار گرفته و ویژگی های مختلف زیستی در حشرات کامل و پوره های سنین مختلف ثبت گردید.

## تشریح و خارج ساختن غدد بزاقی حشرات کامل

غدد بزاقی حشرات کامل به روش یزدانیان و همکاران (Yazdanian et al., 2006) از بدن آن‌ها خارج شدند. در این روش حشرات در داخل ظروف پتری که کف آن با یک لایه پارافین جامد پوشانیده شده بود به پشت قرار گرفته و توسط یک سوزن که به قسمت میانی شکم آن‌ها وارد می‌شد، ثابت گردیدند. سپس اسکلیت‌های بین پیش‌ران‌های پاهای جفت اول و دوم توسط دو نوک یک پنس که در مجاورت هم نگه داشته شدند، شکسته شد به طوری که با این کار اتصال پیش-قفس سینه به ناحیه عقبی خود بسیار سست گردید. بعد از این کار دو نوک پنس به اندازه عرض پیش‌قفس سینه باز و در کناره‌های آن فرو برده شد و پیش‌قفس سینه به آرامی به دور از شکم کشیده شد. با این کار غدد بزاقی و مجاری مربوطه از روده جدا شده و در داخل پیش‌قفس سینه قرار گرفتند. سپس غدد بزاقی از بدن جدا و از نظر ریخت شناسی مورد بررسی قرار گرفتند شدند.

### بررسی ریخت‌شناسی غده بزاقی

غدد بزاقی پس از جدا شدن از بدن حشرات کامل نر و ماده به دو گروه غده اصلی سمت راست و غده اصلی سمت چپ تقسیم شدند. طول و عرض قسمت‌های مختلف غدد بزاقی با استفاده از میکرومتر کالیبره و نصب شده بر روی استریومیکروسکوپ بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد. طول لوب‌های جلویی و عقبی از هایلوس<sup>۱</sup> تا انتهای هر لوب و در امتداد خط مستقیمی که هایلوس را به انتهای لوب متصل می‌کند، و عرض لوب‌های جلویی و عقبی نیز در عریض‌ترین قسمت آن دو اندازه‌گیری شد (Yazdanian et al., 2006) (شکل ۲).



شکل ۲- نحوه اندازه‌گیری طول و عرض قسمت‌های مختلف غده بزاقی سن *G. lineatum*. طول و عرض اوب جلویی (A)، طول و عرض لوب عقبی (B)

Figure 2- Measuring method for the salivary glands dimensions of *G. lineatum*. Posterior lobe length and width (A), anterior lobe length and width (B)

### تعیین میزان پروتئین کل بدن حشرات کامل

برای تعیین پروتئین کلی بدن از روش کلدال<sup>۲</sup> استفاده شد. حشرات کامل نر و ماده مرده پس از خشک شدن کامل به شکل پودر درآورده شدند. مقدار ۰/۲ گرم از نمونه‌های خشک شده بدن سن‌ها توزین و با اسید سولفوریک غلیظ و کاتالیزور

1. Hilus

2. Kjeldahl

(سولفات مس + سولفات پتاسیم) مورد هضم قرار داده شد. ازت نمونه‌های هضم شده پس از رقیق شدن با ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر در دستگاه کلدال مدل Foss2300 Kjeltac<sup>®</sup> اندازه‌گیری شد. برای محاسبه پروتئین کل از ضریب ۶/۲۵ استفاده شد (Kamizake et al., 2003).

### بررسی ویژگی‌های زیستی

#### طول دوره‌های سنین مختلف پورگی

پس از تخم‌گذاری حشرات ماده تغذیه کرده از مکمل‌های غذایی و تفریخ شدن تخم‌ها، ۲۰ عدد پوره سن اول ۲۴ ساعته در هر تکرار مورد بررسی قرار گرفتند. مدت زمان لازم برای تکمیل هر یک از مراحل پورگی به تفکیک هر سن با توجه به وجود پوسته‌های تعویض جلد از طریق نمونه‌برداری‌های روزانه تعیین شد.

#### زادآوری و درصد تفریخ تخم‌ها

برای تخم‌گیری، یک عدد حشره ماده و دو عدد حشره نر به داخل ظروف آزمایش استوانه‌ای به ارتفاع ۱۲ و قطر دهانه ۱۰ سانتی‌متر انتقال داده شدند. سن نواری چتریان تخم‌های خود را به‌صورت دسته‌ای بر روی در پوش‌های پارچه توری قرار می‌داد. تخم‌های گذاشته شده توسط حشرات ماده بر روی پارچه توری روزانه شمارش می‌شدند. این شمارش تا زمان مرگ حشرات ماده ادامه داشت. به‌منظور محاسبه میزان تفریخ تخم‌ها، دسته‌های تخم روزانه بررسی و پوره‌های ظاهر شده از ظروف حذف می‌شدند. شمارش پوره‌ها تا روز دهم پس از شروع تخم‌گذاری ادامه یافت. در نهایت درصد تفریخ تخم‌ها محاسبه گردید. آزمایش‌ها در سه تکرار و در هر تکرار تعداد ۷ حشره ماده و ۱۴ حشره نر مورد بررسی قرار گرفتند.

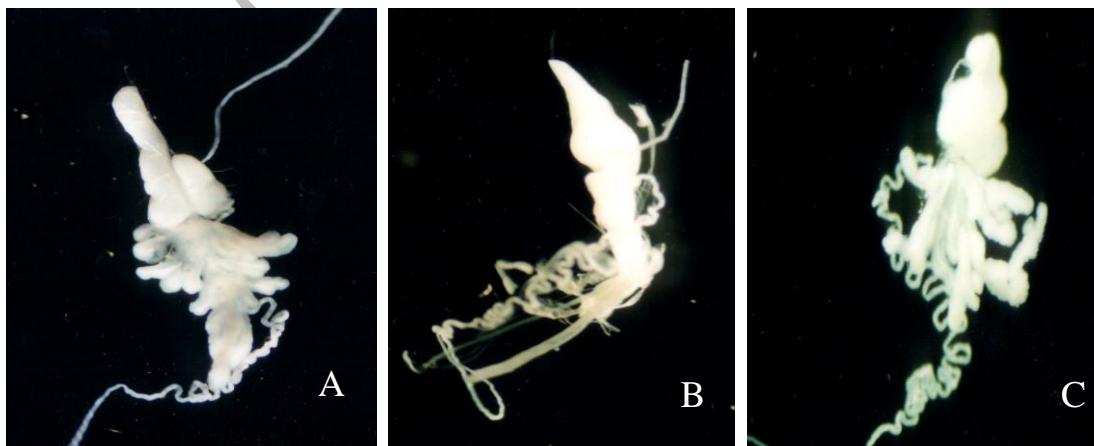
#### تجزیه آماری

پیش از تجزیه واریانس، نرمال بودن داده‌های حاصل بررسی شد و در صورت نیاز تبدیل داده مناسب انجام شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS، به‌صورت طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار تجزیه واریانس (یک طرفه) شدند. مقایسه میانگین‌ها نیز به روش آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد انجام شد.

### نتایج

#### تأثیر مکمل‌های غذایی بر ریخت‌شناسی غده بزاقی

طبق نتایج، تغذیه حشرات کامل از مکمل‌های غذایی مورد بررسی روی شکل و اندازه غدد بزاقی تأثیر داشت. لوب عقبی این غدد در حشرات مختلف و تیمارهای مختلف بیشتر از سایر بخش‌ها تحت تأثیر قرار گرفت (شکل ۳).





شکل ۳- تاثیر تغذیه پوره‌ها از مکمل‌های غذایی بر ریخت‌شناسی غده بزاقی حشرات کامل ظاهر شده سن *G. lineatum*. به ترتیب A تا E: ویتامین B<sub>12</sub>، ویتامین B<sub>6</sub>، ویتامین B<sub>1</sub>، اسید آمینه سرین و شاهد

Figure 3- Effect of nutritional supplements consumption by nymphs on salivary glands dimensions of emerged adults of *G. lineatum*. A-E respectively: B<sub>12</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>1</sub>, Serine amino acid and control

در هر دو جنس نر و ماده، اثر تیمارهای مورد بررسی بر رشد طولی و عرضی لوب‌های جلویی و عقبی غدد بزاقی سن نواری چتریان معنی‌دار بود. در حشرات ماده (جدول ۱) بیشترین اندازه ابعاد غدد در تیمار شاهد ثبت گردید و سایر تیمارها نیز بسته به غلظت مورد استفاده اثرات متفاوتی داشتند و معمولاً تغذیه از غلظت‌های بالاتر مکمل‌ها باعث کاهش بیشتر ابعاد غدد شد.

جدول ۱- اثر تغذیه پوره‌های سن *G. lineatum* از مکمل‌های غذایی مختلف بر اندازه طول و عرض قسمت‌های مختلف غده بزاقی حشرات کامل ماده ظاهر شده

Table 1 - Effects of different nutritional supplements consumption by nymphs on width and length of emerged Female *G. lineatum* salivary glands different parts

| عرض لوب عقبی ( میلی‌متر )<br>Posterior lobe width (mm) |            | طول لوب عقبی ( میلی‌متر )<br>Posterior lobe length (mm) |            | عرض لوب جلویی ( میلی‌متر )<br>Anterior lobe width (mm) |            | طول لوب جلویی ( میلی‌متر )<br>Anterior lobe length (mm) |            | غلظت‌ها<br>Concentrations | تیمارها<br>Treatments |
|--|------------|---|------------|--|------------|---|------------|---------------------------|-----------------------|
| راست<br>Right  | چپ<br>Left | راست<br>Right   | چپ<br>Left | راست<br>Right  | چپ<br>Left | راست<br>Right   | چپ<br>Left |                           |                       |
| 1.17e  | 1.16cd     | 1.58gh  | 1.58b-f    | 0.69c-f  | 0.68b-d    | 1.35a-d   | 1.22b-f    | 0.02gr                    | B <sub>12</sub>       |
| 1.31e  | 1.27cd     | 2.22b-d   | 2.22a      | 0.8a-d   | 0.7b-d     | 1.29a-d   | 1.31b-e    | 0.015gr                   |                       |
| 1.38de   | 1.33cd     | 2.29a-d   | 2.43a      | 0.88ab   | 0.85a      | 1.32a-d   | 1.24a-f    | 0.01gr                    |                       |
| 1.86bc   | 1.86b      | 2.50ab  | 2.43a      | 0.90a  | 0.78a      | 1.35 a-d  | 1.38a-e    | 0.005gr                   |                       |
| 2.01ab   | 2.01ab     | 1.5gh   | 1.45c-f    | 0.49g  | 0.44g      | 1.11d-f   | 1.14e-f    | 1gr                       | B <sub>6</sub>        |
| 2.02ab   | 2.02ab     | 1.47gh  | 1.47b-f    | 0.52g  | 0.49g      | 1.20c-f   | 1.17c-f    | 0.75gr                    |                       |
| 2.07ab   | 2.07ab     | 2.01c-e   | 1.83b      | 0.54g  | 0.49g      | 1.22b-e   | 1.22b-f    | 0.5gr                     |                       |
| 2.31a  | 2.29a      | 2.38ab  | 2.41a      | 0.88g  | 0.50g      | 1.54 a  | 1.59a      | 0.25gr                    |                       |
| 1.22e  | 1.06d      | 1.33h   | 1.92f      | 0.55e-g  | 0.58d-g    | 1.02ef  | 1.10ef     | 1.5gr                     | B <sub>1</sub>        |
| 1.37de   | 1.11cd     | 1.43gh  | 1.28f      | 0.60e-g  | 0.59d-g    | 1.20cf  | 1.25b-f    | 1gr                       |                       |
| 1.42de   | 1.48c      | 1.48gh  | 1.30ef     | 0.62e-g  | 0.64c-e    | 1.31a-d   | 1.44a-c    | 0.75gr                    |                       |
| 1.94bc   | 1.95ab     | 2.23b-d   | 1.78bc     | 0.81a-c  | 0.79a-c    | 1.47 ab   | 1.35a-e    | 0.5gr                     |                       |
| 1.26e  | 1.05d      | 1.74e-g   | 1.56b-f    | 0.47g  | 0.46g      | 0.97ef  | 1.01f      | 2gr                       | Serine                |
| 1.17e  | 1.14cd     | 1.63f-h   | 1.56b-f    | 0.47g  | 0.46g      | 0.96f   | 0.99f      | 1.5gr                     |                       |
| 1.17e  | 1.16cd     | 16.8e-h   | 1.67b-e    | 0.72b-e  | 0.69b-d    | 1.13d-f   | 1.14ef     | 1gr                       |                       |
| 1.35de   | 1.29cd     | 2.33a-c   | 2.26a      | 0.79a-d  | 0.81ab     | 1.45 a-c  | 1.31b-e    | 0.5gr                     |                       |

|        |        |         |         |         |         |         |         |       |               |
|--------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|-------|---------------|
| 1.10e  | 1.07d  | 1.4gh   | 1.39b-f | 0.68c-f | 0.63d-f | 1.27b-d | 1.16d-f | 2gr   | Phenylalanine |
| 1.16e  | 1.16cd | 1.53gh  | 1.45c-f | 0.68c-f | 0.7b-d  | 1.42a-c | 1.42a-d | 1.5gr |               |
| 1.17e  | 1.13cd | 1.61f-h | 1.59b-f | 0.72b-e | 0.81ab  | 1.47ab  | 1.45b   | 1 gr  |               |
| 1.66cd | 1.37cd | 1.96d-f | 1.72b-d | 0.78a-d | 0.91a   | 1.48 ab | 1.46ab  | 0.5gr |               |
| 2.30a  | 2.26a  | 2.61a   | 2.46a   | 0.93a   | 0.91a   | 1.47ab  | 1.46ab  | -     | Control       |

در هر ستون، حروف مشابه به معنی عدم اختلاف معنی دار است (آزمون چنددامنه‌ای دانکن،  $\alpha = 0.01$ ).

The same letters in each column considers statistically non-significant (Duncan's multiple range test,  $\alpha=0.01$ ).

تغذیه پوره‌ها از مکمل‌های غذایی موجب تغییرات مورفومتریک در غدد بزاقی حشرات کامل نر شد (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که غلظت‌های بالای مکمل‌ها اثرات بیشتری در کاهش اندازه لوب‌های جلویی و عقبی سن‌ها داشتند. ابعاد غده بزاقی در تیمار شاهد به صورت معنی‌داری بیشتر از تیمار با مکمل‌های غذایی بود.

جدول ۲ - اثر تغذیه پوره‌های سن *G. lineatum* از مکمل‌های غذایی مختلف بر اندازه طول و عرض قسمت‌های مختلف غده بزاقی حشرات کامل نر ظاهر شده

Table 1- Effects of different nutritional supplements consumption by nymphs on width and length of emerged male *G. lineatum* salivary glands different parts

| عرض لوب عقبی ( میلی‌متر )<br>Rear lobe width<br>(mm) |            | طول لوب عقبی ( میلی‌متر )<br>Rear lobe length<br>(mm) |            | عرض لوب جلویی ( میلی‌متر )<br>Front lobe width<br>(mm) |            | طول لوب جلویی (میلی‌متر)<br>Front lobe length<br>(mm) |            | غلظت‌ها<br>Concentrations | تیمارها<br>Treatments |
|--|------------|---|------------|--|------------|---|------------|---------------------------|-----------------------|
| راست<br>Right  | چپ<br>Left | راست<br>Right   | چپ<br>Left | راست<br>Right  | چپ<br>Left | راست<br>Right   | چپ<br>Left |                           |                       |
| 1.3d-f   | 1.22c-e    | 1.92ef  | 1.46g-j    | 0.73ab   | 0.69ab     | 1.03de  | 0.94d      | 0.02gr                    | B <sub>12</sub>       |
| 1.45b-d  | 1.45a-d    | 1.59ef  | 1.51g-i    | 0.73ab   | 0.69a-c    | 1.12b-e   | 1.14a-d    | 0.015gr                   |                       |
| 1.46b-d  | 1.47a-c    | 1.6ef   | 1.82c-f    | 0.69ab   | 0.67a-d    | 1.26b-e   | 1.34ab     | 0.01gr                    |                       |
| 1.52b  | 1.5ab      | 2.08b   | 1.91b-d    | 0.73ab   | 0.73a      | 1.53a   | ۱/۳۷a      | 0.005gr                   |                       |
| 1.17fg   | 1.18e      | 1.49fg  | 1.44h-j    | 0.41f  | 0.4i       | 1.18b-e   | 1.18a-d    | 1gr                       | B <sub>6</sub>        |
| 1.23e-g  | 1.27b-e    | 1.51fg  | 1.5g-j     | 0.44f  | 0.42hi     | 1.19b-e   | 1.2a-d     | 0.75gr                    |                       |
| 1.34c-f  | 1.39b-e    | 1.56fg  | 1.55g-j    | 0.55f-h  | 0.51f-h    | 1.34a-c   | 1.31a-c    | 0.5gr                     |                       |
| 1.48 bc  | 1.43b-e    | 1.69c-f   | 1.7d-g     | 0.8a   | 0.71a      | 1.36ab  | ۱/۳۳a-c    | 0.25gr                    |                       |
| 1.2e-g   | 1.42b-e    | 1.43fg  | 1.6f-h     | 0.56d-g  | 0.56d-g    | 1.09b-e   | 1.06b-d    | 1.5gr                     | B <sub>1</sub>        |
| 1.2e-g   | 1.45a-d    | 1.67d-f   | 1.56g-i    | 0.61b-g  | 0.59b-g    | 1.09b-e   | 1.09a-d    | 1gr                       |                       |
| 1.3d-f   | 1.48ab     | 1.72c-f   | 1.66e-h    | 0.67a-f  | 0.61a-f    | 1.11b-e   | 1.15a-d    | 0.75gr                    |                       |
| 1.44 b-d   | 1.5ab      | 1.96bc  | 1.72d-g    | 0.69a-e  | 0.65a-e    | 1.18b-e   | 1.18a-d    | 0.5gr                     |                       |
| 1.21e-g  | 1.17e      | 1.28g   | 1.26j      | 0.45g-i  | 0.48g-i    | 1.04d-e   | 1.02cd     | 2gr                       | Serine                |
| 1.22e-g  | 1.2de      | 1.87b-e   | 1.87b-e    | 0.52f-h  | 0.52f-h    | 1.02e   | 1.05b-d    | 1.5gr                     |                       |
| 1.21e-g  | 1.22c-e    | 1.91b-d   | 1.9b-e     | 0.57e-g  | 0.55eg     | 1.07cd  | 1.06b-d    | 1gr                       |                       |
| 1.25e-g  | 1.25b-e    | 2.11ab  | 2.1b       | 0.57c-g  | 0.57c-g    | 1.20b-e   | 1.15a-d    | 0.5gr                     |                       |
| 0.96h  | 0.91f      | 1.31g   | 1.33i-j    | 0.67a-e  | 0.64a-e    | 1.16b-e   | 1.18a-d    | 2gr                       | Phenylalanine         |
| 1.10gh   | 0.92f      | 1.5fg   | 1.46g-j    | 0.71ab   | 0.69ab     | 1.17b-e   | 1.16a-d    | 1.5gr                     |                       |
| 1.26e-g  | 1.18e      | 1.91b-d   | 1.94b-d    | 0.7ab  | 0.69ab     | 1.26b-e   | 1.25a-c    | 1 gr                      |                       |
| 1.38b-e  | 1.38b-e    | 1.96bc  | 2.03bc     | 0.72ab   | 0.69ab     | 1.35ab  | 1.33ab     | 0.5gr                     |                       |

1.71a 1.69a 2.35a 2.34a 0.71ab 0.71ab 1.3a-d 1.3a-d -

در هر ستون، حروف مشابه به معنی عدم اختلاف معنی دار است (آزمون چنددامنه‌ای دانکن،  $\alpha = 0.01$ ).

The same letters in each column considers statistically non-significant (Duncan's multiple range test,  $\alpha=0.01$ ).

مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه (جدول ۱ و ۲) نشان داد که در کلیه تیمارهای به کار رفته بجز تیمار شاهد، تغذیه از پایین‌ترین سطح غلظت همیشه بیشترین اثر را بر روی رشد طول و عرض لوب جلویی در نر و ماده گذاشته است. اما غلظت‌های متفاوت و نوع رژیم‌های غذایی به کار برده شده اثرات متفاوتی را بر روی طول و عرض لوب عقبی در نر و ماده داشته است.

اگر چه غلظت‌های پایین تیمارها در مجموع اثرات نسبتاً مشابهی در رشد و اندازه طول و عرض لوب عقبی در حشرات نر و ماده داشته‌اند. اما اثرات متفاوت این نوع رژیم‌های غذایی بر روی رشد طول و عرض لوب عقبی چه در حشرات نر و چه در حشرات ماده مشاهده شد.

### درصد پروتئین کل بدن

طبق نتایج، اثر تغذیه از ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه مورد بررسی بر درصد پروتئین کل بدن در حشرات ماده ( $F_{4,15} = 36.199, p < 0.0001$ ) و نر ( $F_{4,15} = 19.182, p < 0.0001$ ) در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود. مقایسه میانگین درصد پروتئین کل بدن در سن‌های تغذیه کرده از مکمل‌های غذایی مختلف در جدول ۳ خلاصه شده است.

جدول ۳: مقایسه تاثیر تغذیه پوره‌های سن *G. lineatum* از مکمل‌های غذایی مختلف بر درصد پروتئین کل بدن حشرات کامل نر و ماده ظاهر شده

Table 3 - Comparing effects of different nutritional supplements consumption by nymphs on total protein percentage male and female *G. lineatum* emerged adults

| درصد پروتئین کل بدن در حشرات کامل نر<br>Male total protein percent | درصد پروتئین کل بدن در حشرات کامل ماده<br>Female total protein percent | غلظت<br>Concentration | تیمارها<br>Treatments |
|--|--|-----------------------|-----------------------|
| 46.5±4.2 ij  | 48.92±3.2h   | 0.02gr                | B <sub>12</sub>       |
| 45.14±3.5j   | 46.69±2.4i   | 0.015gr               |                       |
| 45.47±3.5j   | 45.96±2.5i   | 0.01gr                |                       |
| 45.74±4.2j   | 46.19±2.5i   | 0.005gr               |                       |
| 59.63±5.4a   | 60.42±3.1a   | 1gr                   | B <sub>6</sub>        |
| 59.99±5.4a   | 59.87±2.6ab  | 0.75gr                |                       |
| 59.25±2.4b   | 59.58±2.4ab  | 0.5gr                 |                       |
| 58.77±3.2ab  | 59.65±3.6ab  | 0.25gr                |                       |
| 57.62±3.4bc  | 58.32±3.6bc  | 1.5gr                 | B <sub>1</sub>        |
| 53.73±3.1ef  | 55.23±2.4d   | 1gr                   |                       |
| 51.18±3.2g   | 52.95±2.5eg  | 0.75gr                |                       |
| 49.02±2.6h   | 51.4±2.4g  | 0.5gr                 |                       |
| 52.71±3.2fg  | 54.67±3.1ed  | 2gr                   | Serine                |
| 52.49±3.2fg  | 54.91±4.2ed  | 1.5gr                 |                       |
| 51.59±4.2g   | 53.7±4.6ed   | 1gr                   |                       |
| 51.08±2.4g   | 52.65±4.2ed  | 0.5gr                 |                       |

|             |             |       |               |
|-------------|-------------|-------|---------------|
| 59.51±2.4a  | 60.33±2.3a  | 2gr   | Phenylalanine |
| 57.75±3.4bc | 59.11±3.2ab | 1.5gr |               |
| 56.58±2.5cd | 58.94±3.4ab | 1 gr  |               |
| 55.13±3.2de | 56.94±2.6c  | 0.5gr |               |
| 48.74±3.4hi | 48.86±4.2h  | -     | Control       |

در هر ستون، حروف مشابه به معنی عدم اختلاف معنی دار است (آزمون چنددامنه‌ای دانکن،  $\alpha = 0.01$ ).

The same letters in each column considers statistically non-significant (Duncan's multiple range test,  $\alpha=0.01$ ).

مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه مورد استفاده در هر دو جنس نر و ماده نشان می‌دهد که تغذیه از غلظت‌های مختلف ویتامین B<sub>6</sub> بیشترین تأثیر را بر افزایش درصد پروتئین کل بدن سن نواری چتریان گذاشتند (جدول ۳). مکمل غذایی فنیل آلانین نیز در غلظت ۲ گرم بر لیتر اثری مشابه با ویتامین B<sub>6</sub> در هر دو جنس نر و ماده داشتند و موجب افزایش معنی‌داری در میزان پروتئین کل بدن در سن نواری چتریان شدند (جدول ۳). هرچند با کاهش غلظت این اسید آمینه در جنس نر، کاهش معنی‌داری در درصد پروتئین کل سن‌ها مشاهده شد. ویتامین B<sub>12</sub> کمترین تأثیر را در درصد پروتئین کل در هر دو جنس نر و ماده داشت (جدول ۳). این موضوع بخصوص در حشرات نر بسیار معنی‌دار و حتی از تیمار کنترل بدون مکمل غذایی هم کمتر بود. اسید آمینه سرین و ویتامین B<sub>1</sub> در مقایسه با سایر تیمارها اثر متوسطی روی پروتئین کل داشتند.

### اثر تغذیه از مکمل‌های غذایی روی فراسنجه‌های زیستی

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تغذیه پوره‌ها از ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه مورد بررسی روی زادآوری ماده‌های ظاهر شده، درصد تفریح تخم‌های آن‌ها و نیز طول دوره سنین مختلف پورگی در پوره‌های حاصل از تخم‌ها (به جز پوره سن اول) در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود.

جدول ۴- تأثیر تغذیه پوره‌های سن نواری چتریان از مکمل‌های غذایی روی برخی فراسنجه‌های زیستی پوره‌ها و حشرات کامل

Table 4 - Effects of nutritional supplements consumption by nymphs on some biological parameters of *G. lineatum* adults and nymphs

| طول دوره پوره سن ۵<br>5 <sup>th</sup> instar life span | طول دوره پوره سن ۴<br>4 <sup>th</sup> instar life span | طول دوره پوره سن ۳<br>3 <sup>rd</sup> instar life span | طول دوره پوره سن ۲*<br>2 <sup>nd</sup> instar life span | تعداد تخم تفریح شده<br>Hatched eggs | تعداد تخم گذاشته شده<br>Produced eggs | غلظت<br>Concentration | تیمار<br>Treatments |
|--|--|--|---|-------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------|---------------------|
| 8c   | 7.25b  | 6c   | 5c  | 20g                                 | 37hi**                                | 0.02gr                | B <sub>12</sub>     |
| 8c   | 7b   | 6c   | 5c  | 36e                                 | 56f                                   | 0.015gr               |                     |
| 8c   | 7b   | 6c   | 5c  | 56.2bc                              | 78c                                   | 0.01gr                |                     |
| 8c   | 7b   | 6c   | 5c  | 62.8a                               | 84a                                   | 0.005gr               |                     |
| 9a   | 8a   | 7a   | 6a  | 11.8h                               | 28.25j                                | 1gr                   | B <sub>6</sub>      |
| 9a   | 7.8a   | 6c   | 5.5b  | 19g                                 | 39.5h                                 | 0.75gr                |                     |
| 8c   | 7.2b   | 6c   | 5c  | 54c                                 | 74.2d                                 | 0.5gr                 |                     |
| 8c   | 7b   | 6c   | 5c  | 61.5a                               | 82.7ab                                | 0.25gr                |                     |
| 8a   | 8a   | 7a   | 6a  | 15.2gh                              | 25.3 i                                | 1.5gr                 | B <sub>1</sub>      |
| 8.25b  | 7b   | 6c   | 5.2bc   | 29.8f                               | 25.5 g                                | 1gr                   |                     |
| 8c   | 7b   | 6c   | 5c  | 49d                                 | 75.7 de                               | 0.75gr                |                     |
| 8c   | 7b   | 6c   | 5c  | 62.5a                               | 84.2a                                 | 0.5gr                 |                     |

|    |    |    |    |         |         |       |                      |
|----|----|----|----|---------|---------|-------|----------------------|
| 8c | 7b | 6c | 5c | 28.2f   | 50g     | 2gr   | <b>Serine</b>        |
| 8c | 7b | 6c | 5c | 37e     | 58.2f   | 1.5gr |                      |
| 8c | 7b | 6c | 5c | 49.2d   | 71.5de  | 1gr   |                      |
| 8c | 7b | 6c | 5c | 58.5abc | 79.7 bc | 0.5gr |                      |
| 8c | 7b | 6c | 5c | 29f     | 50.5g   | 2gr   | <b>phenylalanine</b> |
| 8c | 7b | 6c | 5c | 37.7e   | 59.2f   | 1.5gr |                      |
| 8c | 7b | 6c | 5c | 47.5d   | 70e     | 1 gr  |                      |
| 8c | 7b | 6c | 5c | 59.2ab  | 80.5abc | 0.5gr |                      |
| 8c | 7b | 6c | 5c | 65a     | 71e     | -     | <b>control</b>       |

\* واحد طول دوره رشدی به روز محاسبه شده است.

\*\* در هر ستون، حروف مشابه به معنی عدم اختلاف معنی دار است (آزمون چنددامنه‌ای دانکن،  $\alpha = 0.01$ )

\*life span unit calculated as days

\*\* The same letters in each column considers statistically non-significant (Duncan's multiple range test,  $\alpha=0.01$ ).

### زادآوری و درصد تفریح تخم

با مقایسه میانگین تاثیر تغذیه از مکمل‌های غذایی مختلف بر زادآوری و درصد تفریح تخم‌های سن نواری چتریان (جدول ۴) مشاهده شد که ویتامین B<sub>12</sub> در غلظت ۰/۰۰۵ گرم بر لیتر، ویتامین B<sub>6</sub> در غلظت ۰/۲۵ گرم بر لیتر، ویتامین B<sub>1</sub> در غلظت ۰/۵ گرم بر لیتر و اسیدهای آمینه سرین و فنیل آلانین در غلظت ۰/۵ گرم بر لیتر، بالاترین تاثیر را بر میزان تخم گذاشته شده و تفریح شده داشتند. با افزایش غلظت هر یک از ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه کاهش معنی داری در تعداد تخم گذاشته شده و تفریح شده توسط سن‌های تیمار شده مشاهده گردید. اثر ویتامین‌های B<sub>1</sub>، B<sub>6</sub> و B<sub>12</sub> مشابه اثر اسیدهای آمینه سرین و فنیل آلانین بوده و هیچکدام بر دیگری برتری نداشت (جدول ۴).

### طول دوره سنین مختلف پورگی

سن نواری چتریان در پرورش با کلیه مکمل‌ها، دارای پنج سن پورگی بود. با مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف تیمارهای به کار رفته طبق جدول ۴ مشاهده می‌شود، غلظت بالای ویتامین B<sub>6</sub> و B<sub>1</sub> (۱ و ۱/۵ گرم بر لیتر) باعث افزایش طول دوره‌های پورگی شده است. اما اختلاف ما بین نوع تیمارهای به کار رفته (ویتامین‌ها در مقابل اسیدهای آمینه) مشاهده نشد. به طوری که اثر هر یک از مکمل‌های غذایی به کار رفته بر طول سنین مختلف پورگی یکسان می‌باشد.

### بحث

در بررسی حاضر افزودن مکمل‌های غذایی به رژیم غذایی سن *G. lineatum* و تغذیه حشره در دوره پورگی از آن‌ها بر ابعاد غده بزاقی حشرات کامل ظاهر شده هر دو جنس اثرات معنی داری داشت. به طور کلی، تغذیه از غلظت‌های بالاتر مکمل‌ها باعث کوچک‌تر شدن اندازه غدد بزاقی شد. ابعاد غدد بزاقی در مقایسه با تیمار شاهد بخصوص در غلظت‌های بالای مکمل‌های غذایی کوچکتر بود. بدشکلی‌ها و تغییر در ابعاد عادی قسمت‌های مختلف حشرات تحت تاثیر دو عامل مهم شرایط پرورش و موادی است که حشرات از آن‌ها تغذیه می‌کنند. این تغییرات مشاهده شده به ژن‌های دخیل در تقسیم سلولی برمی‌گردد که سطح آنزیم‌ها، هورمون‌ها، متابولیسم را بیان یا خاموشی ژن‌های دخیل را تحت تاثیر قرار می‌دهند. ترکیب غذا به عنوان فاکتوری بسیار مهم در نشو و نماي حشرات نقش بسیار مهمی در این خصوص ایفا می‌کند (Seyedalmoosavi et al., 2022). ویتامین‌های گروه B بخصوص در فعالیت آنزیم‌های مختلف نقش به سزایی دارند و تکثیر سلولی عادی نیازمند مقادیر کافی و متوازن از هر گروه از مواد غذایی است. اختلال و کمبودهای موجود در گروهی از مواد غذایی بخصوص در حشرات دارای دوره رشدی کوتاه، بر رشد عادی اندام‌های داخلی و خارجی بدن آن‌ها اثرات سوئی

دارد (Offor, 2010). تاثیر ترکیبات سمی بر آناتومی غدد بزاقی نیز در مطالعاتی گزارش شده است. مارتینز و همکاران (Martínez et al., 2014) نشان دادند که در سن *Podisus nigrispinus* تیمار سن‌ها با حشره‌کش اسپاینوسد موجب تغییرات مورفولوژیک در غدد بزاقی شده و بافت غدد بزاقی در مقایسه با تیمار شاهد تغییراتی در تجمع ملانین، تکثیر سلولی و غیره داشته است. با توجه به اهمیت و نقش بسیار مهم غدد بزاقی در سن‌ها هر نوع تغییر آناتومیکی می‌تواند منجر به وقوع اثرات زیستی و فیزیولوژیکی گردد.

در بررسی حاضر که سطوح مختلفی از مکمل‌های غذایی مورد بررسی قرار گرفته است دوزهای پایین اثرات مثبت و دوزهای بالاتر اثرات منفی بر برخی ویژگی‌های زیستی سن نواری چتریان نشان داد. درصد پروتئین کل بدن به‌عنوان فاکتور مهم تحت تاثیر مکمل‌های غذایی قرار گرفته است. پروتئین نقش بسیار مهمی در ساختمان، نشو و نما، متابولیسم، دگردیسی و تقریباً در تمام ویژگی‌های زیستی و فیزیولوژیکی حشرات ایفا می‌کند (Le gall and Behmer, 2014). بیشترین میزان پروتئین کل با کاربرد ویتامین B<sub>6</sub> و فیویل آلانین مشاهده گردید و با افزایش غلظت‌های آسیدآمین سرین و ویتامین B<sub>1</sub> بر مقدار پروتئین کل بدن افزوده شد. ویتامین B<sub>12</sub> تأثیری در مقدار پروتئین ایجاد نکرد. سولانس و امر (Sulanc and Emre, 2000) در بررسی تأثیر ویتامین B<sub>6</sub> بر درصد پروتئین کل زنبور *Pimpla turionella* نتیجه گرفتند، با کاهش غلظت‌های به‌کار رفته ویتامین، از میزان پروتئین کل بدن کاسته می‌شود. در بررسی حاضر نیز با کاهش غلظت‌های به‌کار رفته ویتامین B<sub>6</sub> از میزان پروتئین کل بدن سن نواری چتریان کاسته شد.

همچنین بررسی حاضر نشان داد که افزودن مکمل‌های غذایی شامل ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه ذکر شده اثرات معنی‌داری را بر تعداد تخم‌های گذاشته شده و تفریح شده سن *G. lineatum* داشتند. با افزایش غلظت هر کدام از مکمل‌های غذایی کاهش معنی‌داری در تعداد تخم گذاشته شده مشاهده شد. در یک بررسی مشخص گردید که پاریدوکسین (B<sub>6</sub>) تاثیر معنی‌داری بر کاهش زادآوری در کرم ابریشم داشت و با افزایش غلظت زادآوری به میزان بیشتری کاهش یافت (Faruki, 2005). همچنین خلیستوسکی و آلفیمو (Khliyovskii and Alfimov, 1979) اظهار داشتند که اضافه شدن اسید آسکوربیک به ماده غذایی، باعث افزایش طول دوره‌های پورگی در سن *G. lineatum* می‌شود. در بررسی حاضر در غلظت‌های بالای ویتامین‌های B<sub>1</sub> و B<sub>6</sub> در مقایسه با شاهد و سایر تیمارها طول دوره‌های پورگی افزایش نشان داد.

در مطالعات مختلف تاثیر ریوفلاوین و بیوتین در زاد و ولد حشرات مختلف گزارش شده است. در مگس سرکه، مگس میوه، ملخ‌ها و برخی حشرات دیگر مشخص شده است که حذف همزیست‌های تولید کننده ویتامین موجب کاهش معنی‌داری در تعداد تخم حشرات مذکور می‌شود. علاوه بر کاهش زادآوری، باروری نیز تحت تاثیر قرار گرفته و درصد تفریح تخم‌ها کاهش یافته است (Serrato-Salas and Gendrin, 2022). همچنین گزارش شده است که، اضافه کردن ریوفلاوین و بیوتین به جیره غذایی ساس موجب بهبود نشو و نما و تولید مثل آن شده است (Moriyama et al., 2015). در بررسی مشابهی اسمیت و همکاران (Smith et al., 2007) نشان دادند که اضافه کردن بیوتین در رژیم غذایی مگس سرکه موجب افزایش باروری و طول دوره رشدی شده است. وزن لاروهای تغذیه کرده از مکمل بیوتین در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌داری نشان داده ولی این تاثیر در حشرات نر و ماده یکسان نبوده و ماده‌ها به میزان ۱۳ درصد کمتر از حشرات نر، محتوای چربی بدن افزایش یافته است. ولی در حشرات ماده میزان پروتئین همولف در اثر تغذیه از بیوتین بیشتر از حشرات نر افزایش یافته است. تفاوت در محتوای پروتئین در حشرات نر و ماده در بررسی حاضر نیز مشاهده شد. متیوز و همکاران (Matthews et al., 2020)، نقش بسیار مهم ویتامین B<sub>6</sub> را در مقایسه با متیونین در طول دوره رشدی مگس سرکه نشان دادند. همچنین لندن‌برگر و همکاران (Landenberger et al., 2004)، در بررسی خود نشان دادند که در مگس میوه، اضافه کردن بیوتین موجب کاهش طول دوره رشدی می‌شود. با توجه به اهمیت بیوتین در تقسیم میتوز در حشرات به‌نظر می‌رسد کاهش میزان دریافت این ویتامین اثرات مستقیمی بر نشو و نما و طول دوره رشدی مراحل مختلف سنی حشرات داشته باشد (Neophytou and Pitsouli, 2022).

ویتامین‌های گروه B نقش بسیار مهمی در متابولیسم حشرات دارند. کاهش معنی‌دار این گروه از ویتامین‌ها در رژیم غذایی اثرات فیزیولوژیکی و بیولوژیکی متعددی در حشرات مختلف گذاشته است، گزارش شده که نسبت جنسی در برخی حشرات بر اثر تغذیه از غلظت‌های مختلف ویتامین B تغییر می‌کند. (Wang et al., 2020).

در مواردی مشخص شده است که غلظت‌های بالای مکمل‌های غذایی تاثیر سوء بر نشو و نما و فیزیولوژی حشرات داشته و طول عمر، زاد و ولد و بقا به شدت تحت تاثیر غلظت‌های مختلف قرار دارد (Bouchebti et al., 2022). گزارش شده است که بتا آلانین در غلظت بالا موجب کاهش طول دوره رشدی و رفتار جستجوگری زنبور *Vespa orientalis* شده است. در حالی که غلظت پایین این مکمل تاثیر مثبتی در مقایسه با شاهد نشان داد. این محققان مشخص کردند که غلظت بالای پرولین و بتا آلانین برای حشرات سمی بوده و نه تنها اثرات مثبتی بر نشو و نما زنبور نداشته است بلکه ویژگی‌های زیستی به صورت منفی تحت تاثیر قرار گرفته است. این ویتامین‌ها میزان تغذیه را هم تحت تاثیر قرار داده‌اند و در غلظت‌های بالا کاهش معنی‌داری در دریافت غذا مشاهده شده است. نتایج مشابهی در غلظت‌های بالای ویتامین‌های گروه B مورد مطالعه در بررسی حاضر نیز مشاهده شد. با توجه به نتایج تحقیق حاضر و مطالعات صورت گرفته غلظت بهینه ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه در نشو و نما و تولید مثل حشرات ضروری است.

با توجه به مجموع اثرات بیولوژیک و فیزیولوژیک مشاهده شده در بررسی حاضر مشخص می‌گردد که مکمل‌های غذایی در غلظت مشخصی می‌توانند ویژگی‌های زیستی سن نواری چتریان را بهبود بخشند و غلظت‌های بالا در مواردی تاثیر عکس داشته و بیولوژی حشره به صورت منفی تحت تاثیر قرار خواهد گرفت. زادآوری و درصد تفریح تخم‌ها به شدت تحت تاثیر مکمل‌های غذایی قرار دارد. اسیدهای آمینه سرین و فنیل آلانین در غلظت‌های پایین موجب افزایش باروری شده ولی غلظت‌های بالای این مکمل نیز تاثیر سوء بر باروری سن نواری چتریان گذاشته است. هر چند در منابع مختلف اثرات مکمل‌های غذایی در تغییر طول دوره رشدی حشرات گزارش شده است ولی در بررسی حاضر مشخص شد که طول دوره رشدی پوره‌های سنین مختلف سن نواری چتریان در سنین مختلف پورگی بجز غلظت‌های بالای ویتامین‌های B<sub>6</sub>، B<sub>1</sub> و B<sub>12</sub> تحت تاثیر مکمل‌های غذایی قرار نگرفتند. از مهم‌ترین نتایج تحقیق حاضر این بود که پروتئین کل بدن در استفاده از مکمل‌های غذایی افزایش معنی‌داری نشان داده و در غلظت‌های بالا میزان ذخیره پروتئین بیشتر از غلظت‌های پایین و بخصوص تیمار شاهد بود.

### تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مالی معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه تبریز صورت گرفته است که از مساعدت آن معاونت محترم کمال تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

### منابع مورد استفاده

- Azevedo, D., Zanuncio, J., Zanuncio, J., Martins, G., Marques-Silva, S., Sossai, & M., Serrão, J. (2007). Biochemical and morphological aspects of salivary glands of the predator *Brontocoris tabidus* (Heteroptera: Pentatomidae). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 3, 469-477. doi.org/10.1590/S1516-89132007000300013
- Baptist, B.A. (1941). The morphology and physiology of the salivary glands of Hemiptera-Heteroptera. *Journal of Cell Sciences*, 2(329), 91-139.
- Bouchebti, S., Bodner, L., Bergman, M., Cohen, T.M., & Levin, E. (2022). The effects of dietary proline,  $\beta$ -alanine, and  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) on the nest construction behavior in the Oriental hornet (*Vespa orientalis*). *Scientific Reports* 12, 7449, 1-8. doi.org/10.1038/s41598-022-11579-w
- Castellanos, N., Martínez, L.C., Silva, E.H., Teodoro, A.V., Serrão, J.E., & Oliveira, E.E. (2017). Ultrastructural analysis of salivary glands in a phytophagous stink bug revealed the presence of unexpected muscles. *PLOS ONE*, 12(6), 1-15.

- Celorio-Mancera, P.M., & Labavitch, J. (2016). Salivary gland secretions of phytophagous arthropods. In: Cohen E., Moussian B. (eds) *Extracellular Composite Matrices in Arthropods*. Springer, Cham. 601-623.
- Cohen, A.C. (2015). *Insect diets: Science and technology*. CRC Press.
- Cossolin, J., Martínez, L., Pereira, M., Vivan, L., Bozdoğan, H., Fiaz, M., & Serrão, J. (2019). Anatomy, histology, and ultrastructure of salivary glands of the burrower bug, *Scaptocoris castanea* (Hemiptera: Cydnidae). *Microscopy and Microanalysis*, 25(6), 1482-1490. doi: 10.1017/S1431927619015010. doi: 10.1017/S1431927619015010
- Dadd, R.H. (1985). Nutrition: organism, In: Kerkut G., Gilbert L. (eds.). *Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology*. 4, 313-390. Pergamon, Oxford.
- Emiliano, C.P., & Bonning, B.C. (2020). "Extraoral digestion: outsourcing the role of the hemipteran midgut." *Current opinion in insect science*, 41, 86-91. doi.org/10.1016/j.cois.2020.07.006
- Faruki, S.I. (2005). Effect of pyridoxine on the reproduction of the mulberry silkworm, *Bombyx mori* (Lep., Bombycidae), *International Studies Journal*, 2, 28-31.
- Genç, H. (2006). General principals of insects nutritional ecology. *Trakya University Journal of Science*, 7(1), 53-57.
- Hori, K. (1967). Preliminary observations on the salivary glands of cabbage stink bug, *Eurydema rugosa* Motschulsky (Hem., Pentatomidae). *Applied Entomology and Zoology*, 2, 187-194.
- Hori, Y., Watanabe, K., & Ito, T. (1966). Nutrition of silkworm *Bombyx mori*. XIV. Further studies on the requirements for B vitamin. *Bulletin of Sericult Experimental Station*, 20, 393-409.
- Kamizake, N.K.K., Gonçalves, M.M., Zaia, C.T.B.V., & Zaia, D.A.M. (2003) Determination of total proteins in cow milk powder samples: a comparative study between the Kjeldahl method and spectrophotometric methods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 16, 507-16. doi: 10.1016/S0889-1575(03)00004-8
- Khlistovskii, E.D., & Alfimov, V.A. (1979). The role of ascorbic acid in the feeding of the noxious pentatomid *Eurygaster integriceps* and the striped bug *Graphosoma lineatum* (L.) reared on artificial media. *Entomologicheskoe Obozryenie*, 58, 233-239.
- Kleinjan, J.E., & Dadd, R.H. (1977). Vitamin requirements of the larval mosquito, *Culex pipiens*. *Annals of Entomological Society of America*, 70, 541-543.
- Koçakoğlu, O., & Candan, S. (2022). Ultrastructural characterization of salivary glands, alimentary canal and malpighian tubules of the red shield bug *Carpocoris mediterraneus* Tamanini, 1958 (Heteroptera, Pentatomidae). *Microscopy and Microanalysis*, 28(3), 824-836. doi: https://doi.org/10.1017/S1431927622000307
- Kraus, S., Tamara, G-M., Mathieu, L. & Coline, M. (2019). Insect Diet. Vonk J., Shackelford T. *Encyclopedia of Animal Cognition and Behavior*, Springer, 1 – 9.
- Landenberger, A., Kabil, H., Harshman, L.G., & Zempleni, J. (2004). Biotin deficiency decreases life span and fertility but increases stress resistance in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 15, 591-600.
- Le Gall, D., & Behmer S.T. (2014). Effects of protein and carbohydrate on an insect herbivore: The vista from a fitness landscape, *Integrative and Comparative Biology*, 54(5), 942-954. doi: 10.1093/icb/icu102
- Li, Y., Wang, S., Liu, Y., Lu, Y., & Wang, S. (2020). The effect of different dietary sugars on the development and fecundity of *Harmonia axyridis*. *Frontiers in Physiology*, 11, 1-12. doi: 10.3389/fphys.2020.574851
- Liu, C., Du, B., Hao, F., Lei, H., Wan, Q., & He, G. (2017). Dynamic metabolic responses of brown planthoppers towards susceptible and resistant rice plants. *Plant Biotechnology Journal*, 15, 1346-1357. doi: 10.1111/pbi.12721.



- Martínez, L.C., Fialho, M.C.Q., Zanuncio, J.C., & Serrão, J.E. (2014). Ultrastructure and cytochemistry of salivary glands of the predator *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae). *Protoplasma*, 251, 535–543. doi: 10.1007/s00709-013-0549-0
- Matthews, M.K., Wilcox, H., Hughes, R., Veloz, M., Hammer, A., Banks, B., Walters, A., Schneider, K.J., Sexton, C.E., & Chaston, J.M. (2020). Genetic influences of the microbiota on the lifespan of *Drosophila melanogaster*. *Applied and Environmental Microbiology*, 86 (10), 1-17. doi: <https://doi.org/10.1128/AEM.00305-20>
- Merzendorfer, H., & Zimoch, L. (2003). Chitin metabolism in insects: structure, function and regulation of chitin synthases and chitinases. *Journal of Experimental Biology*, 206, 4393-412.
- Miankeba, P., Taofic, A., Kiatoko, N., Mutiaka, K., Francis, F., Megido, C., & Protein, R. (2022). Content and amino acid profiles of selected edible insect species from the Democratic Republic of Congo Relevant for Transboundary Trade across Africa. *Insects*, 13, 994. <https://doi.org/10.3390/insects13110994>
- Mirth, C.K., Hall, M.D., & Piper, M.D.W. (2020). Amino acid quality modifies the quantitative availability of protein for reproduction in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Insect Physiology*, doi: 10.1016/j.jinsphys.2020.104050
- Moriyama, M., Nikoh, N., Hosokawa, T., & Fukatsu, T. (2015). Riboflavin provisioning underlies *Wolbachia*'s fitness contribution to its insect host. *mBio*, 10(6), 1-8. doi: <https://doi.org/10.1128/mBio.01732-15>
- Neophytou, C., & Pitsouli, C. (2022). Biotin controls intestinal stem cell mitosis and host-microbiome interactions. *Cell Reports*, 38,1-36. doi: 10.1016/j.celrep.2022.110505
- Offor, E. (2010). The nutritional requirements of phytophagous insects: Why do insects feed on plants? *SSRN Electronic Journal*, 1-17.
- Ramm, C., Wayadande, A., Baird, L., Nandakumar, R., Madayiputhiya, N., Amundsen, K., Donze-Reiner, T., Baxendale, F., Sarath, G., & Heng-Moss, T., (2015). Morphology and proteome characterization of the salivary glands of the western chinch bug (Hemiptera: Blissidae), *Journal of Economic Entomology*, 108(4), 2055–2064.
- Reis, M.M., Meirelles, R.M.S., & Soares, M.J. (2003). Fine structure of the salivary glands of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). *Tissue & Cell*, 35, 393-400.
- Ribeiro, J.M.C. (1995). Insect saliva: function, biochemistry, and physiology. In: Chapman R.F., de Boer G. (eds) *Regulatory mechanisms in insect feeding*. Springer, Boston, MA. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-1775-7\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-1775-7_3)
- Robel, R.J., Press, B.M., Hennig, B.L., & Johnson, K.W. (1995). Nutrient and energetic characteristics of sweepnet- collected invertebrates. *Journal of Field Ornithology*, 66, 44-53.
- Roversi, P.F., Maltese, M., Simoni, S., Cascone, P., Binazzi, F., Strangi, A., Sabbatini, G. & Guerrieri, E. (2018). *Graphosoma lineatum* (Hemiptera: Pentatomidae): a suitable host for mass rearing *Ooencyrtus telenomicida* (Hymenoptera: Encyrtidae). *International Journal of Pest Management*, 64, 294-302. doi.org/10.1080/09670874.2017.1403059
- Salem, H., Bauer, E., Strauss, A.S., Vogel, H., Marz, M., & Kaltenpoth, M. (2014). Vitamin supplementation by gut symbionts ensures metabolic homeostasis in an insect host. *Proceeding of Royal Society*, B 281: 20141838. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2014.1838>
- Serrato-Salas, J., & Gendrin, M. (2022). Involvement of microbiota in insect physiology: Focus on B Vitamins. *ASM Journals*, DOI: <https://doi.org/10.1128/mbio.02225-22>.
- Syedalmosavi, M.M., Mielenz, M., & Veldkamp, T. (2022). Growth efficiency, intestinal biology, and nutrient utilization and requirements of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae compared to monogastric livestock species: a review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 13, 31 <https://doi.org/10.1186/s40104-022-00682-7>

- Smith, E., Hoi, J., Eissenberg, J., Shoemaker, J., Neckameyer, W., Ilvarsonn, A., Harshman, L., Schlegel, V., & Zemleni, J. (2007). Feeding *Drosophila* a biotin-deficient diet for multiple generations increases stress resistance and lifespan and alters gene expression and histone biotinylation patterns. *The Journal of nutrition*, 137. 2006-12. 10.1093/jn/137.9.2006.
- Sulanc, M., & Emre, I. (2000). Effects of B group vitamins and choline chloride on the development and protein synthesis in the male larve of *Pimpla turionella* L. (Hym., Ichneumonidae). *Journal of Applied Entomology*, 124, 151.
- Wang, Y., Ren, F.R., Yao, Y.L., Sun, X., Walling, L.L., Li, N.N., Bai, B., Bao, X.Y., Xu, X.R., & Luan, J.B. (2020). Intracellular symbionts drive sex ratio in the whitefly by facilitating fertilization and provisioning of B vitamins. *ISME J*, 14, 2923–2935. doi.org/10.1038/s41396-020-0717-0
- Yazdanian, M., Farshbaf Pour Abad, R., Rashidi, M.R., Valizadeh, M. & Rashtchi Zadeh, N. (2006). Morphology of the gut and salivary gland of the stripped bug, *Graphosoma lineatum* (Het.; Scutelleridae). *Agricultural Science*, 16 (2), 77-90 (In Persian).
- Yazdanian, M., Farshbaf Pourabad, R., Rashidi, M.R., Valizadeh, M., & Rashtchizade, N. (2011). Effects of some biological properties of the stripped bug, *Graphosoma lineatum* (L.) (Hem., Scutelleridae) on its salivary alpha-amylase activity. *Plant protection*, 33, 49-62. (In Persian with English abstract).
- Yoshii, K., Hosomi, K., Sawane, K., & Kunisawa, J. (2019). Metabolism of dietary and microbial vitamin B family in the regulation of host immunity. *Frontires in Nutrition*, 6,48. <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00048>.
- Zanotto, F.P., Simpson, S.J., & Raubenheimer, D. (2010). The regulation of growth by locusts through post-ingestive compensation for variation in the levels of dietary protein and carbohydrate. *Physiological Entomology*, 18, 425–434.