نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۹، شماره ۱، بهار ۱۳۹۴، ص. ۷۱-۶۰

Journal of Plant Protection
Vol. 29, No. 1, Spring 2015, P. 60-71

تأثیر غلظت‌های زیرکشنده کلرتالونیل بر تغییرات وزنی و منابع انرژی سوسک برگخوار سیب‌زمینی *Leptinotarsa decemlineata* Say (Col.: Chrysomelidae)

کبری فتوحی[1*]- مرتضی موحدی فاضل[2]- اورنگ کاوسی[3]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۹/۱۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۱/۰۴

چکیده

سوسک برگخوار سیب‌زمینی، *Leptinotarsa decemlineata* Say، یکی از مهم‌ترین آفات سیب‌زمینی است. تغذیه حشرات کامل و لاروها از برگ‌های این گیاه خسارت جدی و شدیدی را به آن وارد می‌سازد. با توجه به این‌که این آفت زمستان را به صورت حشره کامل در اعماق خاک سپری می‌کند، هرگونه اختلال در جذب و ذخیره‌سازی منابع انرژی باعث تضعیف احتمالی حشرات کامل زمستان‌گذران و کاهش مقاومت آن‌ها در برابر استرس‌های محیطی طی فصل زمستان خواهد شد. در این تحقیق، اثر غلظت‌های زیرکشنده آفت‌کش کلرتالونیل (۷۲ درصد) بر میزان ذخایر چربی، کربوهیدرات و پروتئین در شرایط مزرعه‌ای بررسی شد. آزمایشات به صورت آزمون فاکتوریل چهار متغیره، شامل غلظت سم (۰، ۲۰۰۰، ۳۰۰۰ و ۴۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر)، جنسیت (نر و ماده)، زمان نمونه‌برداری (۳، ۶ و ۱۲ روز پس از سمپاشی) و تکرار سمپاشی (یک هفته پس از سمپاشی اول)، در چهار تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا گردید. میزان قند، گلیکوژن، چربی و پروتئین موجود بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر بدن حشره تعیین گردید. نتایج نشان داد که ترکیب کلرتالونیل تأثیر معنی‌داری بر میزان چربی، گلیکوژن، قند، پروتئین و محتوای انرژی دارد ($P<0/01$) و از بین غلظت‌های مذکور، غلظت ۳۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر در دوازدهمین روز بعد از دومین سمپاشی بیش‌ترین تأثیر کاهشی را بر منابع انرژی داشته است، به طوری‌که در این غلظت میزان چربی ۶۱/۰۷، گلیکوژن ۲۱/۵۸، قند ۵۷/۲۲ و محتوای انرژی ۵۴/۴۶ درصد پس از کسر مقادیر متناظر در شاهد، کاهش یافته است. هم‌چنین در این غلظت میزان پروتئین ۳۹/۹۴ درصد افزایش داشته است. ترکیب کلرتالونیل در مجموع باعث کاهش برآیند منابع انرژی در سوسک کلرادو شده است.

واژه‌های کلیدی: قارچکش، آفت‌کش، چربی، کربوهیدرات، پروتئین، محتوای انرژی

مقدمه

سوسک برگخوار سیب‌زمینی، *Leptinotarsa decemlineata* Say، یکی از مهم‌ترین آفات سیب‌زمینی می‌باشد. این آفت بومی قاره آمریکا بوده و در ایران برای اولین بار در سال ۱۳۶۳ از شهرستان اردبیل گزارش گردید (۱). تغذیه از برگ‌ها توسط حشرات کامل زمستان‌گذران، حشرات کامل تابستانه و لاروها خسارت جدی و شدیدی را به گیاه سیب‌زمینی وارد می‌سازد تا حدی که گاهی گیاه قادر به تولید غده نمی‌باشد (۳۲). در شرایط آب و هوایی زنجان، حشرات کامل سوسک کلرادو در اواخر شهریور ماه وارد دیاپوز شده و در بهار سال بعد از خاک خارج می‌شوند. به این ترتیب تحمل دماهای پایین و نیزعدم دسترسی به میزبان گیاهی در فصل زمستان را از طریق ذخیره منابع غذایی طی فصل رشد جبران می‌نمایند. هم‌چنین به نظر می‌رسد که سوسک کلرادو نیز مانند بسیاری از حشرات در مرحله بلوغ برای انجام فعالیت‌های بیولوژیکی که تضمین‌کننده بقاء و تداوم نسل آن‌هاست نیازمند منابع کربوهیدراتی، چربی و پروتئینی می‌باشند (۱۳). به‌طور کلی در حشرات قبل ازمرحله دیاپوز، محتوای چربی، کربوهیدرات و پروتئین کل افزایش می‌یابد (۴۶). همواره یک ارتباط متابولیکی بین وزن بدن حشره و اندوخته غذایی آن وجود دارد که تعیین‌کننده منابع انرژی و تضمین‌کننده بقاء حشره خواهد بود (۱۰). میزان بقاء حشرات در زمستان (۸)، باروری بیش‌تر (۷ و ۵۴) و تحمل گرسنگی (۱۴ و ۶۵) در آن‌ها متناسب با مقادیر ذخایر انرژی و مرتبط با اندازه آن‌ها (۴۴) خواهد بود. با توجه به این‌که اغلب حشرات در طول دوره زمستان‌گذرانی تغذیه نمی‌کنند بنابراین برای بقاء و نیز فعالیت تولید مثلی و طی روند دگردیسی بر ذخایر انرژی به‌دست آمده

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد و استادیاران گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان
(*- نویسنده مسئول: Email: k.fotouhi@yahoo.com)

در فصل رشد متکی هستند (۴۵). انرژی‌های ذخیره‌ای در طول دوره زمستان‌گذرانی به‌تدریج کاهش می‌یابد و این کاهش انرژی طی زمستان می‌تواند تلفات حشرات را به همراه داشته باشد (۲۸). در بین منابع انرژی، چربی‌ها با دو نقش انرژی ذخیره‌ای و نیز ترکیبات ضدیخ تأثیر قابل توجهی را روی بقاء حشرات در طول دوره زمستان‌گذرانی دارند (۱۱). براساس مطالعات انجام شده برخی از آفت‌کش‌ها اثرات زیرکشندگی خود را به‌صورت تغییر در میزان باروری، رشد و نمو، تغییر در نسبت جنسی، دیاپوز، مورفولوژی و فیزیولوژی حشرات بروز می‌دهند (۴۲، ۶۸ و ۷۴). یکی از آثار تغذیه‌ای و فیزیولوژیکی غلظت‌های پایین برخی از آفت‌کش‌های شیمیایی، تأثیر بر میزان استفاده از منابع غذایی و نیز ذخیره‌سازی کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و چربی‌ها می‌باشد (۶۱). بین مقدار ذخیره چربی و زنده‌مانی حشرات زمستان‌گذران رابطه مستقیم وجود دارد (۳۶). منابع انرژی غیر چربی نیز در دوره دیاپوز اهمیت دارند (۲۸). منابع معدودی وجود دارند که نشانگر اثر آفت‌کش‌ها روی منابع انرژی سوسک کلرادو می‌باشند (۲۲، ۲۳ و ۳۳). کلرتالونیل، قارچکشی حفاظتی با طیف اثر گسترده و بعضاً دارای اثرات حشره‌کشی و کنه‌کشی می‌باشد. این ترکیب به عنوان قارچکش موثر در کنترل بیماری بادزدگی سیب‌زمینی توصیه شده است. طبق اطلاعات موجود مکانیزم تأثیر این ترکیب ایجاد اختلال در عملکرد آنزیم‌ها و در نهایت مرگ سلولی است (۴۸) با توجه به مکانیزم اثر اشاره شده از یک طرف و نیز اثرات کنترل‌کنندگی هم‌زمان آن روی بیماری بادزدگی سیب‌زمینی و سوسک کلرادو (۳۱)، تحقیق حاضر به بررسی تأثیرات کاهشی آن بر منابع انرژی در حشرات کامل سوسک کلرادو در جهت کاهش بقاء آن در طول دوره زمستان پرداخته است. منابع انرژی علاوه بر تأثیر مستقیم در زنده‌مانی طی دوره دیاپوز، روی ویژگی‌های زیستی پس از دیاپوز نیز موثر می‌باشند (۲۸). بر این اساس و با توجه به حساسیت بالای گیاه سیب‌زمینی نسبت به تغذیه سوسک کلرادو خصوصاً در مراحل اولیه رشد و شکوفه‌دهی، مدیریت حشرات کامل زمستان‌گذران در به حداقل رساندن میزان خسارت بسیار حائز اهمیت می‌باشد (۶۳).

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری حشره

لاروهای سن ۴ نسل دوم سوسک کلرادو در تابستان سال ۹۰ از مزارع سیب‌زمینی شهر زنجان جمع‌آوری و تا زمان ظهور حشرات کامل، روی بوته‌های سیب‌زمینی محافظت شده در مزرعه تحقیقاتی منتقل شدند.

زیست‌سنجی

در این تحقیق از ترکیب کلرتالونیل Sc72% (شرکت سینجنتا) استفاده گردید. آزمایشات اولیه‌ای برای تعیین سه غلظت از سم با حداکثر ۳۰ درصد تلفات، به‌صورت براکتینگ[1] تست اجرا شد. غلظت‌هایی که حداکثر ۳۰ درصد تلفات را طی مدت ۲۰ روز ایجاد می‌کردند به عنوان غلظت نهایی انتخاب شدند. بر این اساس غلظت‌های ۲۰۰۰، ۳۰۰۰ و ۴۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر انتخاب و از آب به‌عنوان تیمار شاهد استفاده گردید. برای انجام آزمایش اصلی، پس از ظهور حشرات کامل نسل دوم، تعداد ۹۰ عدد حشره کامل نر و ماده هم‌سن دو الی سه روزه که از نظر وزنی نیز مشابه بودند جهت تیمار با هر غلظت انتخاب شدند. حشرات به ظروف استوانه‌ای پلاستیکی نیم لیتری که از کف مجهز به توری بودند، منتقل و توسط سمپاش‌های دستی در شرایط آزمایشگاه تیمار شده و بلافاصله روی بوته‌هایی از سیب‌زمینی سمپاشی شده با غلظت‌های مشابه در شرایط مزرعه منتقل گردیدند. هم‌چنین، جهت اطمینان از استقرار سوسک‌ها و نیز جلوگیری از جابجایی‌های بین بوته‌ای، حشرات کامل در درون آستین‌های توری به ابعاد ۱۵×۴۰ سانتی‌متر به تعداد حداکثر ۱۵ عدد، محصور شدند. جهت بررسی آثار احتمالی سموم بر منابع انرژی و نیز تأثیر گذر زمان بر این تغییرات، نمونه‌برداری از تیمارهای تعریف شده به فواصل زمانی ۳، ۶ و ۱۲ روز بعد از سمپاشی انجام شد. هم‌چنین جهت بررسی اثرات یادآوری سموم و نیز اثرات احتمالی تجمعی آن‌ها روی منابع انرژی، در دسته دوم تیمارها، یک هفته بعد از سمپاشی اول، مجدداً حشرات کامل از روی بوته‌ها جمع‌آوری و در آزمایشگاه با غلظت‌های مشابه مرحله اول تیمار شده و روی بوته‌های سمپاشی شده با همان غلظت منتقل و با توری محصور گردیدند. فواصل نمونه‌برداری مشابه مرحله اول یعنی ۳، ۶ و۱۲ روز بعد از سمپاشی انجام شد. تیمار شاهد نیز حاوی ۹۰ عدد حشره نر و ماده تیمارشده با آب مقطر بود که روی بوته‌های تیمار شده با شرایط مشابه منتقل و توسط آستین‌های توری محصور گردیدند. در زمان نمونه‌برداری، توری‌های حاوی حشرات کامل از مزرعه جمع‌آوری و حشرات زنده داخل توری‌ها پس از توزین با ترازوی دیجیتال ۰/۰۱ گرم (مدل A&D EK-300i)، به فریزر با دمای ۸۰- درجه منتقل شدند.

تأثیر کلرتالونیل روی ترکیبات بیوشیمیایی

حشرات کامل نمونه‌برداری شده در هر تیمار بر حسب نر و ماده تفکیک شده و برای هر تیمار چهار عدد نر و چهار عدد ماده انتخاب و پس از حذف بال‌پوش‌ها و پاها توزین شده و به طور انفرادی به لوله‌های فالکون ۱۰ میلی‌لیتری جهت هموژنیزه کردن بافت‌های بدن منتقل گردیدند. نمونه‌ها به مدت حداقل پنج دقیقه توسط هموژنایزر با سرعت ۲۶۰۰ دور در دقیقه هموژنیزه گردیدند. جهت غلبه بر گرمای ایجاد شده در طی هموژنیزه کردن، لوله‌های فالکون حاوی حشرات

1- Bracketing

کامل در درون ظروف حاوی یخ نگهداری شدند. قبل از هموژنیزه شدن نمونه‌ها، به هرکدام ۰/۲ میلی‌لیتر سدیم سولفات ۹۸ درصد (مرک) اضافه گردید. پس از اتمام این مرحله، مقدار سه میلی‌لیتر از حلال کلروفرم- متانول (مرک) به نسبت ۱به۱ به سوسپانسیون اضافه گردید. برای جداسازی قند و چربی از گلیکوژن و پروتئین سوسپانسیون حاصله به مدت یک دقیقه با سرعت (rpm)۳۰۰۰ در سانتریفوژ یخچال‌دار (مدل MIKRO 220R) با دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. میزان گلیکوژن، قند و چربی با استفاده از روش Van Handel (۴۰، ۷۰، ۷۱ و ۷۲) اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری چربی و قند

محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ که حاوی قند و چربی بود جمع‌آوری و پس از افزودن دو میلی‌لیتر آب مقطر جهت جداسازی قند و چربی از یکدیگر به مدت یک دقیقه با سرعت (rpm)۳۰۰۰ مجدداً سانتریفیوژگردید. در این مرحله، محلول رویی که حاوی قند بود به لوله‌های درب دار ۱۰ میلی‌لیتر منتقل و بخش زیرین که حاوی چربی بود در درون لوله باقی ماند. نمونه چربی در آون با دمای ۱۱۰-۹۰ درجه سانتی‌گراد تا حد خشک شدن تغلیظ شد و به آن ۰/۲ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک ۹۸ درصد (مرک) اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۱۰-۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت سپس با افزودن واکنشگر وانیلین (مرک) به نمونه رنگ صورتی حاصل شد. جذب نوری توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (WPA s2000uv/vis) در طول موج ۵۳۰ نانومتر قرائت گردید. نمونه استخراج شده قند پس از تغلیظ در آون با دمای ۱۱۰-۹۰ درجه، با واکنشگر آنترون (مرک) به حجم پنج میلی-لیتر رسانده شد و به مدت ۱۷ دقیقه در آون با دمای ۱۱۰-۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد سپس جذب نوری آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۵ نانومتر قرائت گردید. هم‌چنین از گلوکز (مرک) و روغن سویا (تولید داخل) به عنوان ماده استاندارد به ترتیب برای کمیت‌سنجی کربوهیدرات (قند و گلیکوژن) و چربی استفاده شد.

اندازه‌گیری گلیکوژن و پروتئین

به رسوب حاصل از سانتریفیوژ مرحله اول، آب مقطر افزوده و با استفاده از شیکر مخلوط گردید. جهت اندازه‌گیری گلیکوژن، پس از حذف آب‌رویی و افزودن واکنشگر آنترون به نمونه، به مدت ۱۷ دقیقه در آون با دمای ۱۱۰-۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد سپس جذب نوری آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۵ نانومتر قرائت گردید. میزان پروتئین با استفاده از واکنشگر برادفورد (۴۳) تعیین گردید. از سرم آلبومین گاوی (سیگما) به عنوان ماده استاندارد استفاده و جذب نوری آن در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت گردید. میزان پروتئین، کربوهیدرات و چربی کل بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر حشره محاسبه گردید.

اندازه‌گیری محتوای انرژی

محتوای انرژی کل طبق فرمول زیر محاسبه (۳۷ و ۵۸) و سپس بر وزن حشره (میلی‌گرم) تقسیم گردید (واحد هر کدام از منابع به میلی‌گرم و اعداد ثابت به کالری بر میلی‌گرم می‌باشد).

(۹/۵ × مقدار چربی) + (۴/۲ × مقدار کربوهیدرات) + (۴/۱۹ × مقدار پروتئین) = (cal/mg) محتوای انرژی

تجزیه آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای آماری استاتیستیکس[1] و مینی‌تب[2]۱۶ صورت گرفت. آزمایشات به صورت آزمون فاکتوریل چهار متغیره شامل: غلظت ترکیب شیمیایی با چهار سطح (۰، ۲۰۰۰، ۳۰۰۰ و ۴۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر)، جنسیت در دو سطح (نر و ماده)، فواصل نمونه‌برداری در سه سطح (۳، ۶ و ۱۲ روز)، دفعات سمپاشی در دو سطح (اول و دوم) و در چهار تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا گردید. برای مقایسه میانگین‌ها از روش توکی- کرامر استفاده گردید.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، بیانگر تأثیر معنی‌دار غلظت‌های مختلف کلرتالونیل بر وزن حشرات تیمارشده با این ترکیب می‌باشد. به‌طوری‌که بیش‌ترین کاهش وزن در حشرات تیمار شده با غلظت ۳۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر با کاهش ۱۸/۵۸ درصدی در مقایسه با شاهد مشاهده گردید. فواصل نمونه‌برداری، تکرار سمپاشی و جنسیت نیز اثرات معنی‌داری بر وزن حشرات تیمار شده داشته است و بیانگر آن است که نه تنها کلرتالونیل به تنهایی تغییرات وزنی را تحت تأثیر خود دارد بلکه سایر عوامل از جمله گذر زمان و نیز اثرات تجمعی سم ناشی از تکرار مجدد سمپاشی و هم‌چنین نر یا ماده بودن حشره بر روی کارآیی این ترکیب در کاهش وزنی موثر است (جدول ۱).

علاوه بر این غلظت‌های مختلف کلرتالونیل بر منابع چربی نیز اثرگذار بوده است. به‌طوری‌که در غلظت‌های ۲۰۰۰، ۳۰۰۰ و ۴۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر پس از کسر اثر شاهد، به ترتیب به میزان ۱۹/۵۱، ۶۱/۰۷ و ۶۲/۸۱ درصد چربی را کاهش داده است. فواصل نمونه‌برداری، تکرار سمپاشی و جنسیت نیز اثرات معنی‌داری را بر میزان چربی داشته است (شکل ۱). هم‌چنین، اثرات متقابل معنی‌دار از جمله اثرات سه‌گانه فواصل نمونه‌برداری، غلظت و تکرارسمپاشی

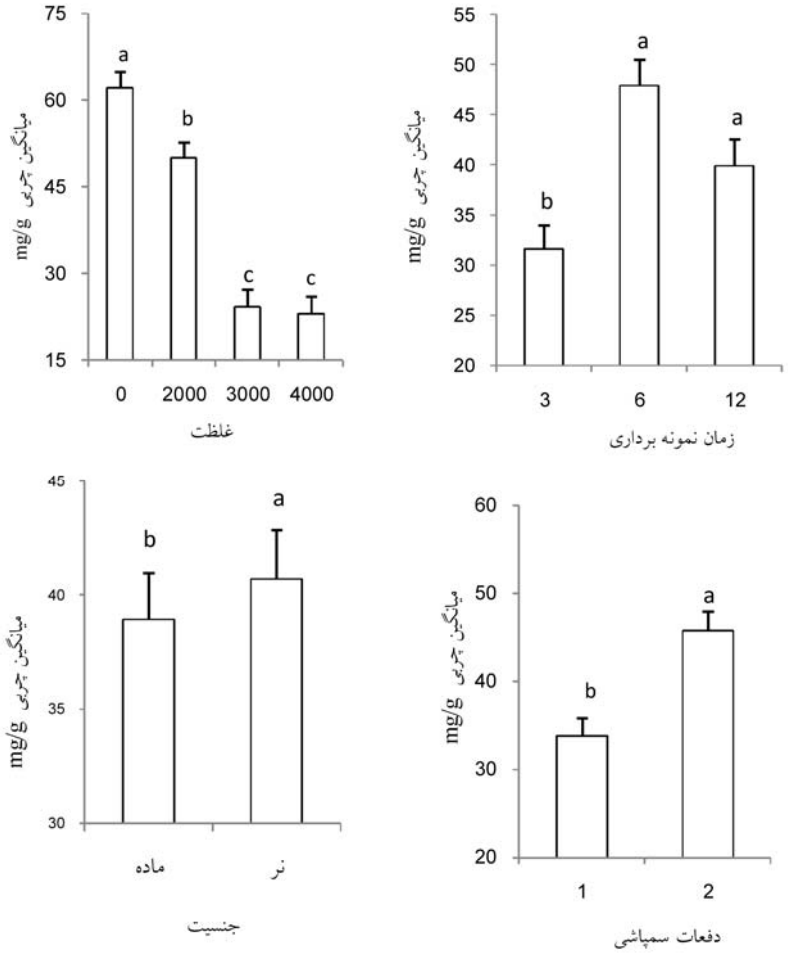
1 - Statistix
2- Minitab

($F_{6,135}$= 5.51, P<0.01)، اثرات دوگانه فواصل نمونه‌برداری و غلظت، فواصل نمونه‌برداری و جنسیت ، غلظت و تکرار سمپاشی بر میزان چربی در حشرات تیمار شده با کلرتالونیل در جدول ۱ ارائه شده است. کم‌ترین میزان در غلظت ۳۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر و ۱۲ روز بعد از دومین سمپاشی با میانگین ۱۴/۱۸±۲/۲۳ میلی‌گرم بر گرم مشاهده گردید. میزان کربوهیدرات (گلیکوژن و قند) نیز تحت تأثیر کلرتالونیل بوده است (P <0.01, جدول۱). به‌طوری‌که میزان گلیکوژن در غلظت‌های ۲۰۰۰، ۳۰۰۰ و۴۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر پس از کسر اثر شاهد، به ترتیب به میزان ۱۹/۰۸، ۲۱/۵۸ و ۲۲/۵۱ درصد کاهش یافته است.

میزان قند نیز در غلظت‌های ۳۰۰۰ و۴۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر پس از کسر اثر شاهد، به ترتیب به میزان ۵۷/۲۲ و ۱۲/۳۷ درصد کاهش یافته است اما در غلظت ۲۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر، ۷/۳۱ درصد افزایش نشان داد. فواصل نمونه‌برداری پس از سمپاشی و تکرار سمپاشی نیز اثرات معنی‌داری را بر میزان کربوهیدرات داشته است (شکل ۲). هم‌چنین اثرات متقابل معنی‌دار از جمله اثرات دوگانه فواصل نمونه‌برداری و تکرار سمپاشی بر میزان کربوهیدرات، در حشرات تیمار شده با کلرتالونیل در جدول ۱ ارائه شده است. بیش‌ترین میزان گلیکوژن در تیمار شاهد و جنس ماده با میانگین ۱۳/۱۴±۰/۸۷ میلی‌گرم بر گرم و کم‌ترین میزان در غلظت ۳۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر و جنس ماده با میانگین ۸/۳۹±۰/۸۴ میلی‌گرم بر گرم، بیش‌ترین میزان قند در غلظت ۲۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر و دومین سمپاشی با میانگین ۶/۱۷±۰/۳۲ میلی‌گرم بر گرم و کم‌ترین میزان در غلظت ۳۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر و دومین سمپاشی با میانگین ۱/۸۱±۰/۲ میلی‌گرم بر گرم مشاهده گردید.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس تغییرات وزنی و منابع انرژی در حشرات کامل سوسک کلرادوی سیب‌زمینی تیمار شده با کلرتالونیل

منبع تغییرات	F (P)					
	تغییرات وزنی (گرم)	چربی (میلی-گرم بر گرم)	گلیکوژن (میلی-گرم بر گرم)	قند (میلی‌گرم بر گرم)	پروتئین(میلی‌گرم بر گرم)	محتوای انرژی(کالری بر میلی‌گرم)
جنسیت	۱۹۹/۹ (۰/۰۰۰)	۴/۹۳ (۰/۰۲۸)	۱/۳۳ (۰/۲۵)	۳/۵۲ (۰/۰۶۳)	۴۶/۱۰ (۰/۰۰۰)	۶/۱۳ (۰/۰۱۵)
زمان نمونه‌برداری	۱۶/۴ (۰/۰۰۰)	۸/۷۶ (۰/۰۰۰)	۳/۶۸ (۰/۰۲۸)	۱۶/۴۶ (۰/۰۰۰)	۶/۶۱ (۰/۰۰۲)	۸/۱۲ (۰/۰۰۰)
غلظت	۱۷/۸۶ (۰/۰۰۰)	۶۳/۳۵ (۰/۰۰۰)	۴/۴۳ (۰/۰۰۵)	۴۲/۰۷ (۰/۰۰۰)	۲۱/۸۷ (۰/۰۰۰)	۶۴/۳۷ (۰/۰۰۰)
دفعات سمپاشی	۴/۵۸ (۰/۰۳۴)	۹/۹۰ (۰/۰۰۲)	۴۴/۳۳ (۰/۰۰۰)	۸/۳۴ (۰/۰۰۵)	۰/۰۱ (۰/۹۳۶)	۵/۳۸ (۰/۰۲۲)
زمان نمونه‌برداری × جنسیت	۰/۵۴ (۰/۵۸۲)	۸/۶۸ (۰/۰۰۰)	۰/۷۲ (۰/۴۸۹)	۲/۵۷ (۰/۰۸)	۲/۵۷ (۰/۰۸)	۷/۷۳ (۰/۰۰۰)
غلظت × جنسیت	۱/۹۳ (۰/۱۲۷)	۱/۰۳ (۰/۳۸۱)	۳/۴۳ (۰/۰۱۹)	۱/۴۹ (۰/۲۱۹)	۵/۷۵ (۰/۰۰۱)	۱/۵۸ (۰/۱۹۷)
دفعات سمپاشی × جنسیت	۰/۸۴ (۰/۴۶۱)	۳/۶۵ (۰/۰۵۸)	۱/۲۳ (۰/۲۷)	۰/۹۷ (۰/۳۲۶)	۱/۹۳ (۰/۱۶۷)	۳/۸۶ (۰/۰۵۱)
زمان نمونه‌برداری × غلظت	۳/۹۱ (۰/۰۰۱)	۹/۱۹ (۰/۰۰۰)	۱/۰۱ (۰/۴۲)	۱/۲۶ (۰/۲۷۸)	۲/۴۷ (۰/۰۲۷)	۹/۴ (۰/۰۰۰)
زمان نمونه‌برداری × دفعات سمپاشی	۳/۹۷ (۰/۰۲۱)	۱/۶۹ (۰/۱۸۸)	۴/۳۸ (۰/۰۱۴)	۳/۸۴ (۰/۰۲۴)	۵/۴۷ (۰/۰۰۵)	۱/۶۷ (۰/۱۹۱)
غلظت × دفعات سمپاشی	۵/۳۰ (۰/۰۰۲)	۱۰/۹۳ (۰/۰۰۰)	۰/۴۵ (۰/۷۱۶)	۱۲/۴۸ (۰/۰۰۰)	۳/۸۵ (۰/۰۱۱)	۱۲/۰۱ (۰/۰۰۰)
زمان نمونه‌برداری × غلظت × جنسیت	۱/۷۳ (۰/۱۱۸)	۱/۰۸ (۰/۳۸)	۰/۸۳ (۰/۵۴۷)	۰/۸۳ (۰/۵۵۲)	۰/۸۷ (۰/۵۱۶)	۱/۱۲ (۰/۳۵۳)
زمان نمونه‌برداری × جنسیت × دفعات سمپاشی	۱/۱۴ (۰/۳۲۱)	۰/۵۳ (۰/۵۹۳)	۰/۸۳ (۰/۴۳۹)	۱/۰۱ (۰/۳۶۷)	۱/۸۷ (۰/۱۵۸)	۰/۳۲ (۰/۷۲۷)
جنسیت × غلظت × دفعات سمپاشی	۱/۹۴ (۰/۱۲۶)	۱/۴۸ (۰/۲۲۲)	۱/۴۹ (۰/۲۲۱)	۱/۳۸ (۰/۲۵۳)	۴/۰۷ (۰/۰۰۸)	۰/۸۵ (۰/۴۶۷)
زمان نمونه‌برداری × غلظت × دفعات سمپاشی	۲/۹۹ (۰/۰۰۸)	۵/۵۱ (۰/۰۰۰)	۰/۱۵ (۰/۹۸۹)	۰/۷۱ (۰/۶۴۳)	۲/۱۳ (۰/۰۵۴)	۵/۱۶ (۰/۰۰۰)
زمان نمونه‌برداری × غلظت × جنسیت× دفعات سمپاشی	۰/۴۰ (۰/۸۷۷)	۱/۸۱ (۰/۱۰۳)	۲/۰۴ (۰/۰۶۵)	۱/۴۳ (۰/۲۰۹)	۰/۵۷ (۰/۷۵۷)	۱/۱۶ (۰/۳۳۱)
ضریب تغییرات	۱۶/۲۶٪	۱۲/۱۴٪	۱۶/۲۹٪	۱۸/۵۹٪	۲۱/۳۲٪	-
تبدیل داده:	-	Log base 10	Log base 10		-	Log base 10



شکل۱- تأثیر فاکتورهای زمان نمونه‌برداری، غلظت کلرتالونیل (µl/l) ، دفعات سمپاشی و جنسیت بر میزان چربی mg/g در حشرات کامل سوسک کلرادوی سیب‌زمینی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، بیانگر تأثیر معنی‌دار کلرتالونیل بر میزان پروتئین می‌باشد ($P<0.001$, جدول ۱).

میزان پروتئین در غلظت‌های ۲۰۰۰، ۳۰۰۰ و۴۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر پس از کسر اثر شاهد، به ترتیب به میزان ۱۱/۸۸، ۳۹/۹۴ و ۳۳/۲۴ درصد افزایش داشته است. فواصل نمونه‌برداری و جنسیت تأثیر معنی‌داری بر میزان پروتئین داشته است (شکل ۳). هم‌چنین اثرات متقابل معنی‌دار از جمله اثرات سه‌گانه غلظت، تکرارسمپاشی و جنسیت ($F_{3,135}= 4.07$,$P<0.01$) و اثرات دوگانه فواصل نمونه-برداری و تکرار سمپاشی، غلظت و تکرار سمپاشی، فواصل نمونه-برداری و غلظت، غلظت و جنسیت بر میزان پروتئین در حشرات تیمار شده با کلرتالونیل در جدول ۴ ارائه شده است. بیش‌ترین میزان پروتئین در جنس نر با غلظت ۳۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر، و تکرار دوم سمپاشی با میانگین ۰/۵۷±۹/۸۹ میلی‌گرم بر گرم و کم‌ترین میزان در جنس ماده، تیمار شاهد با میانگین ۰/۴۱±۴/۳۸ میلی‌گرم بر گرم مشاهده گردید.

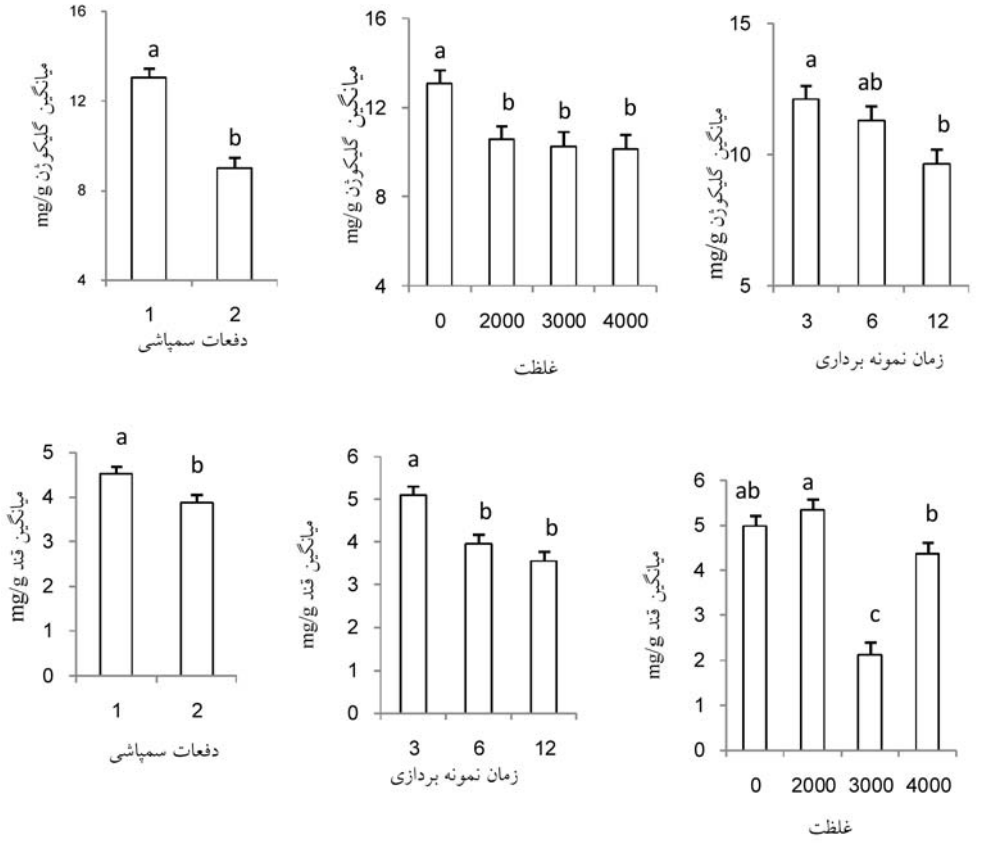
کلرتالونیل در مجموع اثرات کاهشی معنی‌داری بر محتوای انرژی داشته است (جدول ۱). به‌طوری‌که در غلظت‌های ۲۰۰۰، ۳۰۰۰ و ۴۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر پس از کسر اثر شاهد، به ترتیب به میزان ۱۷/۶۱، ۵۴/۴۶ و ۵۴/۸۸ درصد محتوای انرژی را کاهش داده است.

بحث

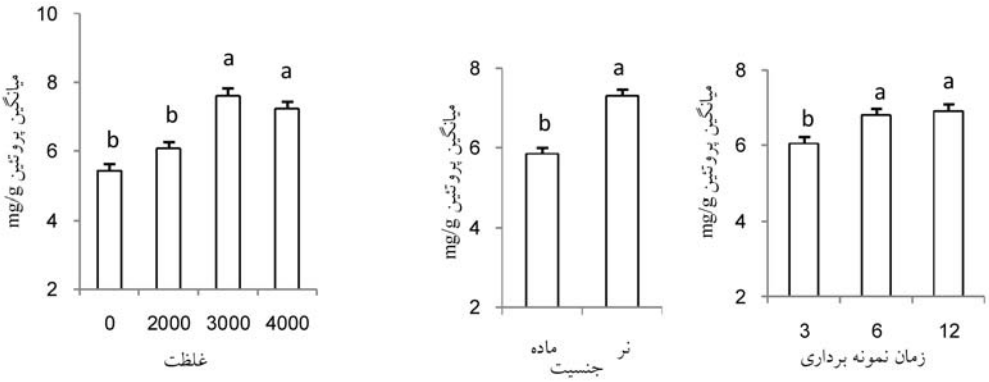
به طورکلی تغییرات منابع انرژی را می توان تحت تأثیر سه دسته از عوامل احتمالی دانست:

۱) آفت‌کش‌های شیمیایی با احتمال آن‌که فعالیت ضدتغذیه‌ای دارند مانع تغذیه مطلوب حشرات کامل شده و درنتیجه حشره قدرت ذخیره‌سازی مطلوب منابع انرژی را نخواهد داشت (۳۹).

۲) ترکیب کلرتالونیل از طریق تأثیرات درونی و غلبه بر نظم فیزیولوژیکی درونی بدن و دخل و تصرف در مراحل مختلف کاتابولیسم و یا آنابولیسم منابع انرژی، اثرات مذکور را موجب شده است (۵۳).



شکل۲- تأثیر فاکتورهای زمان نمونه‌برداری، دفعات سمپاشی و غلظت کلرتالونیل (µl/l) بر میزان گلیکوژن و قند mg/g در حشرات کامل سوسک کلرادوی سیب‌زمینی



شکل۳- تأثیر فاکتورهای زمان نمونه‌برداری، جنسیت و غلظت کلرتالونیل (µl/l) بر میزان پروتئین mg/g در حشرات کامل سوسک کلرادوی سیب‌زمینی

۳) در طی این تحقیق گیاهان مورد تغذیه نیز توسط کلرتالونیل سمپاشی شده‌اند، با توجه به مکانیزم اثر برخی از ترکیبات شیمیایی که روی چرخه‌های انرژی اثرگذارند به نظر می‌رسد که بتوانند در گیاهان نیز تغییراتی را در منابع انرژی ایجاد نموده (۷۵) و اثرات غیر مستقیمی را روی حشرات کامل سوسک کلرادو به همراه داشته باشند.

چربی

چربی‌ها به عنوان منبع مهم انرژی در بسیاری از موجودات از

جمله در حشرات محسوب می‌شوند و حشرات آن‌ها را یا از منابع غذایی کسب نموده و یا این‌که در درون بدن سنتز می‌کنند. تغییر و تبدیل چربی در حشرات توسط مکانیزم بازخوردی که روی سلول‌های عصبی- ترشحی دارد کنترل می‌شود (۱۷). حشرات مواد غذایی اضافی را به چربی تبدیل کرده و در سلول‌های چربی ذخیره می‌کنند و در مواقع تنش از آن به عنوان منبع انرژی استفاده می‌کنند. در این تحقیق، ترکیب کلرتالونیل و غلظت‌های مختلف آن، فواصل نمونه‌برداری، تکرار سمپاشی و اثرات متقابل آن‌ها، تاثیر کاهشی بر میزان چربی داشته است. کاهش میزان چربی می‌تواند در اثر فعال‌سازی مسیر متابولیکی جهت تولید انرژی در مواجهه با تنش ایجاد شده در اثر حشره‌کش‌ها رخ دهد (۳۸). هم‌چنین اختلال در متابولیسم برخی از اسیدهای چرب ممکن است با جلوگیری از فعالیت یک نوع یا گروهی از لیپازها صورت پذیرد (۳۵). طبق گزارش پاتل (۵۶)، در گونه *Hydropsyche contubernalis* L (Tricoptera) تحت شرایط تنش، هورمون‌های آدیپوکاینتیک[1] فعال می‌گردد که به نوبه خود فعالیت لیپولیز[2] در اجسام چربی را افزایش می‌دهد. کاهش میزان چربی در اثر کاربرد سموم شیمیایی به‌خصوص سایپرمترین روی گونه‌های مختلف توسط سایر محققین نیز گزارش شده است (۳۸، ۵۶، ۶۰ و ۶۱)، اگر چه بیش‌ترین تاثیر کاهشی توسط سموم از گروه تنظیم‌کننده‌های رشد به خصوص پایری‌پروکسی‌فن و فنوکسی‌کارب بر روی گونه‌های مختلف گزارش شده است (۵، ۲۰، ۲۴، ۲۵، ۳۰، ۴۹، ۵۱ و ۷۸). البته در بعضی از گونه‌ها کاربرد سموم شیمیایی اثرات افزایشی را به دنبال داشته است (۱۹ و ۲۹). لازم بذکر است که کاهش میزان چربی درسوسک کلرادو سیب‌زمینی مانند بعضی از حشرات تیمار شده با سموم شیمیایی وابسته به غلظت و مدت زمان می‌باشد و این می‌تواند در اثر فعال شدن مسیرهای متابولیکی جایگزین انرژی در سلول‌های چربی حشراتی باشد که تحت استرس آفت‌کش‌ها قرار گرفته‌اند (۵۶).

کربوهیدرات

کربوهیدرات‌ها یکی از منابع مهم انرژی در بسیاری از حشرات محسوب می‌شوند و به شکل گلیکوژن در اجسام چربی، ماهیچه‌های پرواز و اطراف معده میانی ذخیره می‌شوند ولی اجسام چربی مهم‌ترین محل ذخیره گلیکوژن هستند (۵۳). میزان کربوهیدرات موجود در هم‌ولنف شاخص مهمی از میزان متابولیسم، تعادل پویا از جذب، سوخت‌وساز و مصرف توسط بافت‌های مختلف است (۷۷). کربوهیدرات‌ها در بدن حشرات به سه شکل: مونوساکاریدها (فروکتوز و گلوکز)، دی‌ساکاریدها (تری‌هالوز) و پلی‌ساکاریدها (گلیکوژن) دیده می‌شوند (۲۱). گلوکز در سنتز کیتین که مهم‌ترین ترکیب کوتیکولی است و برای سنتز قندهای الکلی که برای سازگاری به سرما یا خشکی مورد نیاز است، استفاده می‌شود (۶۶ و ۷۳). نقش حفاظتی تری‌هالوز در برابر تنش خشکی به خوبی شناخته شده است (۵۹). مطالعات انجام شده روی حشرات مختلف نشان می‌دهد که سازش سرمایی منجر به افزایش تری‌هالوز و گلوکز در بدن می‌شود این تغییرات سبب کاهش سطح گلیکوژن می‌گردد (۲۷). بنابراین افزایش ترکیبات کربوهیدراتی در حشرات مفید و کاهش آن در حشرات آفت، نقش مهمی در بقاء آن‌ها بویژه طی پروسه زمستان‌گذرانی دارد. در این تحقیق، ترکیب کلرتالونیل، فواصل نمونه‌برداری، تکرار سمپاشی و اثرات متقابل آن‌ها بر میزان کربوهیدرات اثرگذار بوده است. افزایش میزان کربوهیدرات در برخی از غلظت‌ها نسبت به شاهد را می‌توان طبق گزارش اورتل[3](۵۵) به پدیده هورمزیس[4]نسبت داد که طی آن غلظت‌های پایین آفت‌کش‌ها ممکن است اثرات مفیدی را روی موجودات زنده نشان دهند. اما کاهش میزان کربوهیدرات نسبت به شاهد ناشی از تنش ایجاد شده در اثر استفاده از حشره‌کش‌ها می‌باشد که طی آن فرآیند گلیکولیز فعال می‌شود تا کمبود انرژی ایجاد شده در اثر تنش را جبران نماید که این امر منجر به کاهش میزان گلیکوژن می‌شود (۳). هم‌چنین تنش سبب تغییرات غیرطبیعی در مسیرهای متابولیک و در نتیجه تولید ترکیبات فنلی سمی می‌گردد. موارد مشابه در عالم گیاهی نیز مشاهده شده است به‌طوری‌که تنش حاصله از فیتوتوکسین‌ها در فرم یک ترکیب سمی سبب کاهش تقسیم‌سلولی، گره‌زایی، تنفس، فتوسنتز، اختلال در غشای سلولی و خصوصاً کاهش در مقدار کل کربوهیدرات در گونه‌های مختلف گیاهی می‌شود (۶۴). اثرات کاهشی برخی از آفت‌کش‌ها خصوصاً سایپرمترین بر منابع کربوهیدراتی در سایر حشرات نیز گزارش شده است (۶، ۳۸، ۵۲ و ۶۱). هم‌چنین اثرات کاهشی تنظیم‌کننده‌های رشد روی منابع کربوهیدراتی نیز در گزارشات محققین مختلف مشاهده شده است (۱۹، ۵۰، ۶۲ و ۶۹).

پروتئین

پروتئین‌ها ترکیبات آلی کلیدی هستند که بیشتر، نقش ساختمانی دارند و می‌توان انتظار داشت که در مواقع تنش به عنوان یک مکانیسم جبرانی ایفای نقش کنند (۴۷). میزان پروتئین و اسیدهای آمینه تشکیل‌دهنده آن، تعیین‌کننده رشد حشرات می‌باشند. پروتئین‌ها به عنوان یک منبع از اسیدهای آمینه برای ساخت انواع متنوعی از پروتئین‌ها عمل می‌کنند. لذا پروتئین‌ها برای حفاظت از بافت‌های تحلیل رفته و تشکیل پروتئین‌های جدید مورد استفاده قرار می‌گیرند

1- Adipokinetic
2- Lypolysis
3- Ortel
4- Hormesis

(۳۸). نیازهای تغذیه‌ای حشرات به پروتئین بسته به سن، جنسیت و استرس‌های فیزیولوژیکی متفاوت است. به عنوان مثال حشرات ماده برای رشد و نمو تخمدان و تخم نیازمند منابع پروتئینی هستند در حالی که حشرات نر برای بلوغ اسپرم نیازی به پروتئین ندارند (۵۳). در این تحقیق، ترکیب کلرتالونیل و غلظت‌های مختلف، فواصل نمونه‌برداری، تکرار سمپاشی، جنسیت و اثرات متقابل آن‌ها بر میزان پروتئین اثرگذار بوده است. طبق مطالعات انجام شده، افزایش در میزان پروتئین ممکن است در اثر افزایش طبیعی آنزیم‌های سم‌زدایی و هیدرولیتیک محافظ، در مدت زمان کوتاهی بعد از تیمار با حشره‌کش‌ها صورت پذیرد (۴). از طرفی کاهش میزان پروتئین در اثر کاربرد آفت‌کش‌های شیمیایی می‌تواند به دلیل باند شدن این ترکیبات به پروتئین‌های حشره و تشکیل کمپلکس باشد (۱۸). همان‌طور که قبلاً اشاره گردید تحت شرایط تنش، هورمون آدیپوکاینتیک[1] فعال می‌گردد که این هورمون از سنتز پروتئین نیز در حشرات جلوگیری می‌کند (۱۲).

به‌طور کلی حشره کش‌ها باعث ایجاد اختلال در سنتز پروتئین‌ها می‌شوند (۴۱) به‌طوری‌که کاربرد آن‌ها روی تعداد قابل توجهی از حشرات باعث کاهش پروتئین کل شده است (۲، ۱۹، ۳۸، ۶۰، ۶۱ و ۶۷) هم‌چنین اثرات کاهشی (۹، ۲۶، ۳۴ و ۷۸)، افزایشی (۱۵ و ۷۶) و بی‌تفاوتی (۱۶) تنظیم‌کننده‌های رشد روی منابع پروتئینی گونه‌های مختلف حشرات گزارش شده است.

با توجه به نتایج حاصله از این تحقیق بنظر می‌رسد که بتوان از طریق کاربرد آفت‌کش‌هایی همچون کلرتالونیل نه تنها بیماری بادزدگی را در سیب‌زمینی کنترل کرد (۳۱) بلکه ضمن تقلیل میزان بقاء و تولید مثل در سوسک کلرادو، در ذخیره‌سازی منابع انرژی در حشرات کامل زمستان‌گذران این آفت اختلال ایجاد نمود. بر حسب اطلاعات موجود در سایر گونه‌ها، کاهش ذخایر انرژی احتمالاً روند زمستان‌گذرانی آن‌ها را دچار اختلال نموده و میزان تلفات آن‌ها را افزایش خواهد داد که البته قطعیت این امر انجام تحقیقات تکمیلی دیگری را می‌طلبد.

منابع

۱- نوری قنبلانی ق. ۱۳۶۸. بررسی مقدماتی از زیست‌شناسی سوسک کلرادوی سیب‌زمینی *Leptinotarsa decemlineata* Say (col, chroysomelidae). مجله علوم کشاورزی ایران. ۱: ۱-۹.

2- Ahmad I., Shamshad A., and Tabassum R. 2000. Effect of neem extract in comparison with cypermethrin (10% EC) and methyl parathion (50% EC) on cholinesterase and total protein content of adult *Tribolium castaneum* (PARC strain). Bulletin of Pure and Applied Science, 19 A: 55-61.

3- Ali N.S., Ali S.S., and Shakori, A.R. 2011. Effects of Sublethal Doses of Talstar on Biochemical Components of Malathion-Resistant and -Susceptible Adults of Rhyzopertha dominica. Pakistan Journal of Zoology. 43:879-887.

4- Assar A.A., Abo El-MahasenM.M., Khalil M.E., and Mahmoud S.H. 2010. Biochemical effects of some insect growth regulators on the house fly, *Musca domestica* (diptera: muscidae). Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, 2:33–44.

5- Bagheri F., Talebi KH., and Hosseininaveh V. 2010. Cellular energy allocation of pistachio green stink bug, *Brachynema germari* Kol. (Hemiptera.: Pentatomidae) in relation to juvenoid pyriproxyfen. African Journal of Biotechnology, 9:5746-5753.

6- Bais V.S., and Arasta T. 1995. Effect of sublethal concentration of aldrex on protein, lipid and glycogen level in the liver and muscle of catfish, *Mystus vittatus*. Journal of Freshwater Biology, 7:151-154.

7- Berger D., Walters R., and Gotthard K. 2008. What limits insect fecundity? Body size and temperature dependent egg maturation and oviposition in a butterfly. Functional Ecology, 22:523-529.

8- Bosch J., Kemp W.P. 2004. Effect of pre-wintering and wintering temperature regimes on weight loss, survival, and emergence time in the mason bee *Osmia cornuta* (Hymenoptera: Megachilidae). Apidologie, 35:469-479.

9- Breccia A., Gattavecchia E., Albonetti G., and Dipietra A.M. 1976. Radiabialaqy of phytodrugs: role of juvenile hormones and analogues in the biosynthrsis of RNA in *Drosophila* larvae. Journal of Environmental Science H1th Pesticide. Mod contamination Aqr. wastes. B11:1-7.

10- Briegel H., Knusel I., and Timmermann S.E. 2001. Aedes aegypti: size, reserves, survival, and flight potential. Journal of Vector Ecology, 26:21-31.

11- Buckner J.S., Kemp W.P., and Bosch J. 2004. Characterization of triacylglycerols from overwintering prepupae of the alfalfa pollinator *Megachile rotundata* (Hymenoptera: Megachilidae). Archives of Insect

1- Adipokinetic

Biochemistry and Physiology, 57:1-14.
12- Carlisle J.A., and Loughton B.G. 1979. Adipokinetic hormone inhibits protein synthesis in **Locusta**. Nature, 282:420-421.
13- Chapman R.F. 1982. The Insects, Structure and Function. Harvard University Press, Cambridge, MA, USA.
14- Chippendale A.K., Chu T.J.F., and Rose M.R. 1996. Complex trade-offs and the evolution of starvation resistance in *Drosophila melanogaster*. Evolution, 50:753-766.
15- Cotton G. 1989. A study of the effects of the juvenile hormone analogue methoprene on the intermediary metabolism of the African migratory locust, Durham theses, Durham University. Available at Durham E-Theses Online: http://etheses.dur.ac.uk/6432/.
16- De Kort C.A.D., Koopmanschap A.B., and Vermunt A.M.W. 1997. Influence of pyriproxyfen on the expression of haemolymph protein genes in the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata.* Journal of Insect Physiology, 43:363–371.
17- Downer R.G.H. 1985. Lipid metabolism, In: Kerkut G.A., Gilbert L.I.(eds.), Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry, and Pharmacology, vol. 10, Pergamon Press, Oxford, , pp. 75–114.
18- El-Kordy M.W., Abbas M.G., Gadallah A.I., and Mostafa S.A. 1994. Effect of Margosan-0 as an azadrachitin compound on some biochemical aspects of *Spodoptera littoralis.* Al-Azhar Journal of Agricultural Research, 20:329-345.
19- El-Sheikh T.A.A., Hassanein A.A., Radwan E.M.M., and Abo-Yousef H.M. 2005. Biochemical effects of certain plant oils on the Lesser grain borer, *Rhizopertha dominica.* Annals of Agricultural Science (Cairo), 50:729-737.
20- Etebari K., Bizhannia A.R., Sorati R., and Matindoost L. 2007. Biochemical changes in haemolymph of silkworm larvae due to pyriproxyfen residue. Pesticide Biochemistry and Physiology, 88:14–19.
21- Fadamiro H.Y., Chen L.I., Onagbola E.O., and Graham L.F. 2005. Lifespan and patterns of accumulation and mobilization of nutrients in the sugar-fed phorid fly, *Pseudacteon tricuspis*. Physiological Entomology, 30:212–224.
22- Fotouhi K., Movahedi Fazel, M., and Kavusi O. 2012 a. Effects of Some Concentration of Neem-Azal on sugar and glycogen changes in adult of Colorado Potato Beetles, Leptinotarsa decemlineata (Coleoptera.: Chrysomelidae). p. 125-128. 2nd International Symposiumof Bio-Pesticides and Ecotoxicological Network. 24-26 Sep 2012. Thailand.
23- Fotouhi K., Movahedi Fazel, M., and Kavusi O. 2012 b. Effects of Some Concentration of Neem Azal on lipid and protein changes in adult of Colorado Potato Beetles, *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera.: Chrysomelidae). p. 167-170. 2nd International Symposiumof Bio-Pesticides and Ecotoxicological Network. 24-26 Sep 2012. Thailand.
24- Ghasemi A., Sendi J.J., and Ghadamyari M. 2010. Physiological and Biochemical Effect of Pyriproxyfen on Indian Meal Moth *Plodia Interpunctella* (Hubner)(Lepidoptera: Pyralidae). Journal of Plant Protection Research, 50:416-422.
25- Ghoneim K.S. 1994. Synergistic and antagonistic action of Chlorfluazuron and mevalonic acid against the main body metabolism of the Egyptian cotton leafworm *Spodoptera littoralis* Boisd. (Lepidoptera: Noctuidae). Journal of the Egyptian German Society of Zoology, 14. D: 89-116.
26- Gordon R., and Burford I.R. 1984. Effects of methoprene, a juvenile hormone analog, on the larval and pupal stager of the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. Journal of Insect Physiology, 30:279-286.
27- Goto M., Li, Y.P., Kayaba S., Outani S., and Suzuki K. 2001. Cold hardiness in summer and winter diapause and post-diapause pupae of the cabbage armyworm, *Mamestra brassicae* L. under temperature acclimation. Journal of Insect Physiology, 47:709-714.
28- Hahn D.A., and Denlinger D.L. 2007. Meeting the energetic demands of insect diapause: nutrient storage and utilization. Journal of Insect Physiology, 53:760–773.
29- Hajsamadi Z., Movahedi Fazel M., and Kavusi O. 2012. Effects of Some Concentrations of Fenitrotion on lipid and protein changes in adults of Sunn pest *Eurygaster integriceps* Put. p. 355-358. 2nd International Symposium of Bio-Pesticides and Ecotoxicological Network. 24-26 Sep 2012. Thailand.
30- Hamadah KH.SH., Ghoneim K.S., Tanani M.A. 2012. Effect of certain insect growth regulators on the lipid content of some tissues of the desert locust *Schistocerca gregaria*. African Journal of Biochemistry Research, 6:121-128.

31- Hare J.D., Logan P.A., and Wright R.J. 1983. Suppression of colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae) populations with antifeedant fungicides. Environmental Entomology, 12:1470-1477.
32- Hare J.D. 1990. Ecology and management of the Colorado potato beetle. Annual Review of Entomology, 35**:**81–100.
33- Hegazy G., Cock A.D., Auda M., and Degheele D. 1989. Diflubenzuron toxicity, effect on the cuticle ultrastructure and chitin and protein content of the Colorado potato beetle Leptinotarsa decemlineata (Say)(Coleoptera: Chrysomelidae). Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent, 54.
34- Himeno M., Takahashi J., and Komono T. 1979. Effect of juvenile hormone on macromolecular synthesis of an insect cell line. Agricultural and Biological Chemistry, 43:1285-1292.
35- Huang Z., Zhao M., and Shi P. 2012. Sublethal effects of azadirachtin on lipid metabolism and sex pheromone biosynthesis of the Asian corn borer *Ostrinia furnacalis.* Phytoparasitica, 40:361–368.
36- Ito K., and Nakata T. 1998. Diapause and survival in winter in two species of predatory bugs, *Orius sauteri* and *O. minutes*. Entomologia Experimentalis et Applicata, 89:271-276.
37- Judd T.M., Magnus R.M., and Fasnacht M.P. 2010. A nutritional profile of the social wasp Polistes metricus: Differences in nutrient levels between castes and changes within castes during the annual life cycle. Journal of Insect Physiology, 56:42-56.
38- Kalimuthu M., and Pandian R.S. 2010. Toxicological effect of an insecticide that contains organochlorine and pyrethroid on the biochemical constituents of aquatic insect, *Diplonychus rusticus* (Fabr.). Current Biotica, 4:10-22.
39- Kassem M.A., Mohammad T.A., and Bream A.S. 2011. Influence of the bioinsecticides, NeemAzal, on main body metabolites of the 3rd larval instar of the house fly *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). African Journal of Biochemistry Research, 5: 272-276.
40- Kaufman C., and Brown M.R. 2008. Regulation of carbohydrate metabolism and gambiae. Journal of Insect Physiology, 54:367-377.
41- Khan M.Z., Takassum R., Naqui S.N.H., Shah E.Z., Tabassum F., Ahmad I., Fatima F., and Khan M.F. 2003. Effect of cypermethrin and permethrin on cholinesterase activity and protein content in *Rana tigrina* (Amphibia). Turkish Journal of Zoology, 27:243-246.
42- Krishna T., Bhasard Reddy K., Narst Reddy M., and Maruthi Ram G. 2007. Effect of Fenvalerate, A synthetic pyrethroid on the pupal and adult females of sweet potato weevil, *Cylas formicarius* F (Coleoptera:Curculinidae). Pestology, 31:26-29.
43- Kruger N.J. 1994. The Bradford method for protein quantitation. Methods Molecular Biology, 32:9–15
44- Lease H.M., and Wolf B.O. 2011 . Lipid content of terrestrial arthropods in relation to body size, phylogeny, ontogeny and sex. Physiological Entomology, 36:29-38.
45- Leather S.R., Walters K.F.A., and Bale J.S. 1995. The Ecology of Insect Overwintering, Cambridge University Press, Cambridge.
46- Lefever K.S., Koopmanschap A.B., and De Kort C.A.D. 1989. Changes in the concentrations of metabolites in haemolymph during and after diapauses in female Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata.* Journal of Insect Physiology, 35:121-128.
47- Li B., Xie Y., ChengZ., Cheng J., Hu R., Sang X., Gui S., Sun Q., Gong X., Cui Y., Shen W. and Hong F. 2012. Cerium Chloride Improves Protein and Carbohydrate Metabolism of Fifth-Instar Larvae of *Bombyx mori* Under Phoxim Toxicity. Biological Trace Element Research, 150:214-220.
48- Long J.W., and Siegel M.R. 1975. Mechanism of action and fate of the fungicide chlorothalonil (2, 4, 5, 6-tetrachloroisophthalonitrile) in biological systems: 2. In vitro reactions . Chemico-biological interactions, 10:383-394.
49- Mandal D., and Chaudhuri D.R. 1992. Studies on carbohydrate, protein and lipid levels in normal and stress conditions in fat body and integument as compared to whole body during development of moth *Corcyra cephalonica*. International Journal of Tropical Insect Science, 13:121-128.
50- Mukherjee S.N., and Sharma R.N. 1996. Azadirachtin induced changes in feeding, dietary utilization and midgut carboxylesterase activity of the final instar larvae of *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae). Journal of Environmental Science. Health Part B, 31:1307-1319.
51- Mulye H., and Gordon R. 1993. Effects of two juvenile hormone analogs on hemolymph and fat-body metabolites of the eastern spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Clemens) (Lepidoptera:

Tortricidae). Canadian Journal of Zoology, 71:1169-1174.
52- Muralimohan P., Komalakumari M., and Yellamma K. 1989. Changes in carbohydrate and glycogen levels under pyrethroid neurotoxicity in the cockroach *Periplaneta Americana*. Journal of Ecobiology, 1:168-172.
53- Nation J.L. 2002. Insect Physiology and Biochemistry. CRC Press, Boca Raton.
54- Oberhauser K.S. 1997. Fecundity, lifespan and egg mass in butterflies: effects of male derived nutrients and female size. Functional Ecology, 11:166-175.
55- Ortel J. 1996. Metal-supplemented diets alter carbohydrate levels in tissue and hemolymph of gypsy moth larvae (*Lymantria dispar*, Lymantriidae, Lepidoptera). Environmental toxicology and chemistry, 15:1171-1176.
56- Patel R.T., Soulages J.L., Hariharasundaram B., and Arrese E.L. 2005. Activation of the lipid droplet controls the rate of lipolysis of triglycerides in the insect fat body. The Journal of Biological Chemistry, 280:22624-22631.
57- Piiroinen S., Ketolal T., Lyytinen A., and Lindstro M.L. 2011. Energy use, diapause behaviour and northern range expansion potential in the invasive Colorado potato beetle. Functional Ecology, 25:527–536 .
58- Platt T., and Irwin B. 1973. Caloric content of phytoplankton. Limnology and Oceanography, 18:306–310.
59- Ring R.A., and Danks H.V. 1998. The role of trehalose in cold-hardiness and desiccation. Cryo-letters, 19:275–282.
60- Sak O., Uckan F., and Ergin E. 2006. Effects of Cypermethrin on Total Body Weight, Glycogen, Protein, and Lipid Contents of *Pimpla turionellae* (L.) (Hymenoptera: Ichneumonidae). Belgian journal of Zoology, 136:53-58.
61- Saleem M.A., Shakoori A.R., and Mantle D. 1998. Macromolecular and enzymatic abnormalities induced by a synthetic pyrethroid, Ripcord (cypermethrin) in adult beetles of stored grain pests, *Tribolium castaneum*(Herbst.)(Col. Tenebrionidae). Archives of Insect Biochemistry and Physiology, 39:144-154.
62- Salem N.Y. 1994. Physiological effects of Meliaazedarach on the black cutworm, *Agrotis ipsilon*. Bulletin Entomology Society Egyptian, 72:25-30.
63- Shields E.J., and Wyman J.A. 1984. Effect of defoliation at specific growth stages on potato yields. Journal of Economic Entomology, 77:1194–1199.
64- Siddiqui Z.S., and Ahmed S. 1999. Effect of Dipterex insecticide on carbohydrate, RNA, DNA and Phenolic contents of *Vigna Radiata* (L) Wilczek and *Vigna Mungo* (L) Hepper. Pakistan Journal of Botany, 31:93–96.
65- Stockhoff B.A. 1991. Starvation resistance of gypsy-Moth, *Lymantria dispar* (L) (Lepidoptera, Lymantriidae) tradeoffs among growth, body size, and survival. Oecologia, 88:422-429.
66- Storey K.B. 1997. Organic solutes in freezing tolerance. Comparative Biochemistry and Physiology Part A, 117:319–326.
67- Tabassum R., and Naqvi S.N.H. 1998. Effect of dimilin (IGR) NC and Nfc (neem exracts) on nucleic acid and protein content of *Callosobruchus analis* (F) of 21st Pakistan Zoological Congress, (Ed. Shakoori AR).
68- Takada Y., Kawamura S., and Tanaka T. 2001. Effect of various insecticides on the development of the egg parasitoid *Trichogramma dendrolimi* (Hymenoptera: trichogrammatidae). Journal of Economic Entomology, 94:1340-1343.
69- Tanani M.A., Ghoneim K.S., and Hamadah KH.SH. 2012. Comparative effects of certain IGRs on the carbohydrates of hemolymph and fat body of the Desert locust, *Schistocerca gregaria* (Orth:Acrididae). Florida Entomologist, 95:928-935.
70- Vanhandel E. 1985a. Rapid determination of glycogen and sugar in mosquitoes. Journal of American Mosquito Control Association, 1:299-304.
71- Vanhandel E. 1985b. Rapid determination of total lipids in mosquitoes. Journal of American Mosquito Control Association, 1:302-304.
72- Vanhandel E., and Day J.F. 1988. Assay of lipids, glycogen and sugars in individual mosquitoes: correlations with wing length in field-collected *Aedes vexans*. Journal of American Mosquito Control Association, 4:549-550.
73- Watanabe M., Kikawada T., Minagawa N., Yukuhiro F., and Okuda T. 2002. Mechanism allowing an

insect to survive complete dehydration and extreme temperatures. Journal of Experimental Biology, 205:2799–2802.

74- Willrich M.M., and Boethel D.J. 2001. Effect of diflubenzuron on *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera:Noctuidae) and its parasitoid *Copidosoma floridanum* (Hymenoptera: Encyrtidae). Environmental Entomology, 30:794-797.

75- Wilson R.G., and Michiels A. 2003. Fall herbicide treatments affect carbohydrate content of Canada thistle (Cirsium arvense) and dandelion (Taraxacum officinale). Weed Science, 51:299–304.

76- YI S-X., and Adams T.S. 2000. Effect of pyriproxyfen and photoperiod on free amino acid concentrations and proteins in the hemolymph of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say). Journal of Insect Physiology, 46:1341–1353.

77- Zhu Q., He Y., Yao J., Liu Y., Tao L., and Huang Q. 2012. Effects of sublethal concentrations of the chitin synthesis inhibitor, hexaflumuron, on the development and hemolymph physiology of the cutworm, *Spodoptera litura*. Journal of Insect Science, 12:1-13.

78- Zibaee A., Zibaee I., and Sendi J.J. 2011. A juvenile hormone analog, pyriproxifen, affects some biochemical components in the hemolymph and fat bodies of *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae). Pesticide Biochemistry and Physiology, 100:289–298.