

اثر غلظت زیر کشنده قارچ *Beauveria bassiana* روی تخصیص انرژی سلولی  
سن شکارگر (*Andrallus spinidens* Fabricius (Hem.: Pentatomidae)  
مولود غلامزاده چیتگر<sup>۱\*</sup>، جلیل حاجی زاده<sup>۱</sup>، محمد قدمیاری<sup>۱</sup>، آزاده کریمی ملاطی<sup>۱</sup> و حسن  
هدی<sup>۲</sup>

۱- گروه گیاه پزشکی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان. ۲- بخش تحقیقات گیاه پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان مازندران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران. ۳- موسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور، بخش کنترل بیولوژیک، آمل، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۴/۸/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۲/۹)

### چکیده

سن شکارگر (*Andrallus spinidens* Fabricius (Hemiptera: Pentatomidae) از عوامل کنترل بیولوژیک لاروهای بال پولکداران در مزارع برنج ایران می باشد. در تحقیق حاضر، اثرات غلظت زیر کشنده قارچ بیمارگر حشرات، *Beauveria bassiana* روی تخصیص انرژی سلولی این سن شکارگر مطالعه شد. پنج غلظت ۱۰<sup>۴</sup>، ۱۰<sup>۵</sup>، ۱۰<sup>۶</sup>، ۱۰<sup>۷</sup> و ۱۰<sup>۸</sup> کنیدی بر میلی لیتر آماده شدند. پوره های سن پنجم A. *spinidens* در سوسپانسیون های قارچ به مدت ۱۰ ثانیه غوطه ور شدند. پس از انجام زیست سنجی و تجزیه و تحلیل داده ها، برای سایر آزمایش ها، غلظت LC<sub>30</sub> قارچ مورد استفاده قرار گرفت. آزمایش ها در دمای ۲۵±۲ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۶۰±۱۰ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انجام شدند. مقادیر انرژی در دسترس (شامل کربوهیدرات، گلیکوژن، چربی و پروتئین)، انرژی مصرفی و تخصیص انرژی سلولی در سن شکارگر *A. spinidens* برآورد شدند. میزان انرژی در دسترس و مصرفی در حشرات تیمار شده با قارچ (به ترتیب ۶۸/۵۳±۰/۲۸ و ۶/۱۰±۰/۰۱ ژول بر حشره) با شاهد (به ترتیب ۷۹/۶۱±۰/۰۳ و ۶/۶۳±۰/۰۱ ژول بر حشره) اختلاف معنی داری نداشت. برآورد تخصیص انرژی سلولی نشان داد که سن های تیمار شده با قارچ مقدار انرژی کمتری (۱۱/۲۲±۰/۷۵ ژول بر حشره) در مقایسه با شاهد (۱۲±۰/۳۷ ژول بر حشره) داشتند، هر چند این اختلاف از نظر آماری معنی دار نبود. طبق مطالعه حاضر، غلظت زیر کشنده، ۳×۱۰<sup>۵</sup> کنیدی بر میلی لیتر از قارچ *B. bassiana* اثر سویی روی پارامترهای بیوشیمیایی آزمایش شده ی سن شکارگر *A. spinidens* ایجاد نمی کند.

**واژه های کلیدی:** غلظت زیر کشنده، سن شکارگر، قارچ بیمارگر حشرات، تخصیص انرژی سلولی

## مقدمه

سن شکارگر *Andrallus spinidens* Fabricius (Hemiptera: Pentatomidae) از شکارگرهای غیراختصاصی لاروهای بال پولکداران در مزارع برنج می‌باشد (Manley, 1982). پوره‌های سن دوم تا پنجم و حشرات کامل این شکارگر روی لاروهای آفتی نظیر *Chilo suppressalis* Walker (Pyralidae) و *Naranga aenescens* Moore (Noctuidae) و *Mythimna unipunctata* Haworth (Noctuidae) فعالیت شکارگری دارند (Mohaghegh and Najafi, 2003). این سن پنتاتومید انتشار جهانی داشته (Thomas, 1994) و به عنوان عامل کنترل بیولوژیک در مزارع برنج در ایران، هندوستان و مالزی شناسایی شده است (Nageswara Rao, 1965; Manely, 1982; Mohaghegh and Najafi, 2003). از ویژگی‌های مهم این شکارگر می‌توان به کوتاه بودن چرخه زندگی، رفتار تهاجمی آن نسبت به طعمه و توانایی ادامه تغذیه برای چندین ساعت را نام برد (Manley, 1982).

قارچ *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Hypocreales: Cordycipitaceae) یکی از شناخته‌ترین قارچ‌های حشره‌خوار می‌باشد (Wraight et al., 1998). این قارچ به عنوان یک عامل کنترل بیولوژیک از توانایی بالایی برای کنترل آفات برخوردار بوده و جزئی از سیستم مدیریت تلفیقی آفات می‌باشد (Thungrabeab and Tongma, 2007). تنوع میزبانی این قارچ، آن را به یکی از بهترین گونه‌های قارچ‌های بیمارگر برای کنترل آفات تبدیل کرده است (Rehner and Buckley, 2005). در نتیجه استفاده بیش از حد از آفت‌کش‌های شیمیایی و در پی مشکلات مرتبط با کاربرد این ترکیبات، تقاضا برای توسعه روش‌های پایدار و ایمن از نظر محیط زیست در حال افزایش است. موفقیت قارچ‌های حشره‌خوار به عنوان عوامل کنترل بیولوژیک تنها مربوط به کارایی بالای آن‌ها علیه آفات نیست، بلکه توجه به این نکته مهم است که این عوامل زنده در برابر موجودات غیر هدف خاصیت بیماری‌زایی نداشته باشند (Thungrabeab and

Tongma, 2007). برخی محققین اثر زیان‌بار قارچ‌های حشره‌خوار را روی موجودات غیر هدف گزارش کرده‌اند (Jacobson et al., 2001; Down et al., 2009; Gao et al., 2012).

کل ذخایر انرژی در بدن حشرات با عنوان انرژی در دسترس (Ea)<sup>۱</sup> و انرژی مصرفی (Ec)<sup>۲</sup> در نظر گرفته می‌شود. انرژی در دسترس در بدن حشرات، مجموع کل انرژی حاصل از محتوای لیپید، پروتئین، قند کل و گلیکوژن بوده و فعالیت سیستم انتقال الکترون (ETS)<sup>۳</sup> نشان دهنده‌ی انرژی مصرفی است. این انرژی در شرایط سوبسترای اشباع شده اندازه‌گیری می‌شود. تخصیص انرژی سلولی (CEA)<sup>۴</sup> نشانگر زیستی است که بر اساس میزان انرژی در دسترس و میزان انرژی مصرفی در موجود زنده، محاسبه می‌شود (De Coen et al., 2000). این شیوه‌ی برآورد به عنوان یک روش سریع و فوری برای اندازه‌گیری ذخیره‌ی انرژی یک موجود زنده معرفی شده است (De Coen and Janssen, 1997). منابع انرژی در سلول‌های بدن حشرات می‌توانند مورد هدف مواد بیگانه قرار گیرند (Bridges et al., 1983). با توجه به این که همه‌ی فرایندهای حیاتی یک موجود زنده وابسته به انرژی است (Lorenz and Gade, 2009)، تغییرات متابولیسمی در بدن ناشی از عوامل تنش‌زا، می‌تواند اثر مغایری روی رشد و تولید مثل ایجاد کند (Callow and Sibly, 1990). بنابراین می‌توان انتظار داشت که عوامل خارجی تنش‌زا بتوانند با تغییر در فرایندهای متابولیسمی یک دشمن طبیعی، ویژگی‌های زیستی آن را تحت تأثیر قرار داده و کارایی آن را در کنترل بیولوژیک کاهش دهند. بنابراین، فراهم کردن اطلاعاتی در زمینه‌ی اثر اینگونه عوامل روی متابولیسم انرژی دشمنان طبیعی، مهم تلقی می‌شود. وقتی که سن شکارگر *A. spinidens* در معرض غلظت زیرکشنده، LD<sub>30</sub> آفت‌کش‌های دیازینون (۱۳۴۳/۵ پی‌پی‌ام)، کلرپایریفوس

<sup>1</sup> . Energy available

<sup>2</sup> . Energy consumption

<sup>3</sup> . Electron transport system

<sup>4</sup> . Cellular Energy Allocation

### زیست‌سنجی قارچ *B. bassiana*

ابتدا ایزوله‌ی به‌دست آمده از قارچ *B. bassiana* روی محیط سابرو دکستروز<sup>۱۱</sup> آگار کشت داده شد. ظروف در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس، دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. پس از ۱۴ روز، کنیدی‌ها با استفاده از سوزن استریل روی محیط کشت برداشته شدند. برای تهیه سوسپانسیون، کنیدی‌ها در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل به همراه ۰/۰۵ درصد توپین پخش شدند. سوسپانسیون توسط سوزن استریل به طور کامل هم زده شد تا ساختارهای میسلیومی شکسته و تا حد لازم اسپورها از هم جدا شوند، سپس از پارچه حریر عبور داده شد تا صاف شود. از سوسپانسیون صاف شده، غلظت‌های ۱۰<sup>۴</sup>، ۱۰<sup>۵</sup>، ۱۰<sup>۶</sup>، ۱۰<sup>۷</sup> و ۱۰<sup>۸</sup> کنیدی بر میلی‌لیتر با شمارش میزان اسپور توسط لام هموسیت شمار مدل نتوبار (Neubauer) تهیه شدند. برای زیست‌سنجی، پوره‌های سن پنجم *A. spinidens* در سوسپانسیون‌های تهیه شده از اسپور این قارچ به مدت ۱۰ ثانیه به روش غوطه‌وری تیمار شدند (Serebrov et al., 2006). حشرات تیمار شده روی کاغذ صافی قرار داده شدند تا مقدار اضافی محلول حذف شود. سپس به ظروف پلاستیکی شفاف استوانه‌ای (قطر ۷ و ارتفاع ۱۰ سانتی‌متر) منتقل شدند و تعداد کافی لارو سن آخر پروانه *G. melonella* جهت تغذیه برایشان فراهم شد. ظروف داخل اتاقک رشد نگهداری شدند. حشرات تیمار شده، به مدت یک هفته، روزانه مورد بازدید قرار گرفته و تلفات آن‌ها یادداشت شد. حشرات مرده به یک ظرف پتری ۹۰ میلی‌متری منتقل می‌شدند. قطعه‌ای از پنبه‌ی مرطوب درون پتری‌های مذکور برای تأمین رطوبت لازم جهت جوانه‌زنی قارچ قرار داده می‌شد. در صورتی که مرگ و میر حشرات ناشی از آلودگی به قارچ باشد، طی ۳-۲ روز، میسلیوم قارچ مذکور روی بدن حشره شروع به رشد می‌کرد. برای هر غلظت، ۴۰ حشره استفاده شد.

(۳۱۲/۷ پی‌پی‌ام) و فینیترون (۲۸۷/۶ پی‌پی‌ام) قرار گرفت، ذخایر انرژی و تخصیص انرژی سلولی آن به شدت متأثر شد (Gholamzadeh chitgar et al., 2014). در مورد اثر احتمالی قارچ *B. bassiana* روی سن مذکور مطالعه‌ای صورت نگرفته است. در این تحقیق اثر غلظت LC<sub>30</sub> قارچ *B. bassiana* روی انرژی در دسترس، انرژی مصرفی و تخصیص انرژی سلولی سن شکارگر *A. spinidens* مورد بررسی قرار گرفت.

### مواد و روش‌ها پرورش حشرات

پوره‌ها و حشرات کامل سن شکارگر *A. spinidens* از مزارع برنج شهرستان آمل، استان مازندران در شهریور ماه ۱۳۹۲ جمع‌آوری شدند. این حشرات روی لاروهای سن آخر پروانه موم‌خوار، *Galleria melonella* Linnaeus (Lep.: Pyralidae) در شرایط آزمایشگاهی در دمای ۲۵±۲ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۶۰±۱۰ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی پرورش داده شدند.

### ترکیبات و مواد شیمیایی مورد استفاده

در این تحقیق قارچ *B. bassiana* ایزوله B<sub>3</sub> از خاک منطقه فشدن استان تهران جداسازی و استفاده شد. برای انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی مواد مورد نیاز شامل پلی وینیل پیرولیدین<sup>۱</sup> از شرکت سیگما<sup>۲</sup> و وانیلین<sup>۳</sup>، آنترون<sup>۴</sup>، نیکوتین آمید آدنین دی نوکلوتید<sup>۵</sup>، نیکوتین آمید آدنین دی نوکلوتید فسفات<sup>۶</sup>، گلیکوژن<sup>۷</sup>، گلوکز و سولفات منیزیم<sup>۸</sup>، منیزیم<sup>۹</sup>، تریتون X-100، یودونیتروتترازولیم<sup>۹</sup> و تریس از شرکت مرک<sup>۱۰</sup> تهیه شدند.

1. Polyvinylpyrrolidone

2. Sigma

3. Vanillin

4. Anthron

5. NADH

6. NADPH

7. Glycogen

8. MgSO<sub>4</sub>

9. Iodonitrotetrazolium (INT)

10. Merck

11. Sabouraud Dextrose Agar

### آزمایش‌های متابولیسم انرژی

برای ارزیابی تأثیر قارچ *B. bassiana* روی متابولیسم انرژی سن شکارگر *A. spinidens* از غلظت زیرکشنده، LC<sub>30</sub> قارچ در تمامی آزمایش‌ها استفاده شد. میزان انرژی در دسترس، انرژی مصرفی و تخصیص انرژی سلولی در حشرات تیمار شده به شرح زیر اندازه‌گیری شد:

### اندازه‌گیری ذخایر انرژی

میزان انرژی ذخیره‌ای شامل لیپید، قند کل، گلیکوژن و پروتئین به شرح زیر اندازه‌گیری شد. پوره‌های ۲۴ ساعته سن پنجم تیمار شده با غلظت زیرکشنده قارچ *B. bassiana*، در صورت زنده ماندن، به میکروتیوب منتقل شده و در دمای منفی ۲۰ درجه سلسیوس منجمد شدند. برای اندازه‌گیری‌های متابولیسم انرژی از حشراتی که تا ۷۲ ساعت پس از تیمار زنده مانده بودند، استفاده شد. هر حشره درون یک میکروتیوب حاوی ۲۰۰ میکرولیتر Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (۰/۲ گرم در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر) و ۱۳۰۰ میکرولیتر محلول کلروفرم متانول (۱۵ میلی‌لیتر کلروفرم و ۳۰ میلی‌لیتر متانول) هموزنایز شد. میکروتیوب‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس و ۸۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. برای اندازه‌گیری میزان لیپید، قند کل و گلیکوژن از روش یووال و همکاران (Yuval et al., 1994) استفاده شد.

### اندازه‌گیری میزان لیپید کل

برای اندازه‌گیری میزان لیپید میکروتیوب‌های حاوی ۵۰۰ میکرولیتر از محلول رونشین حاصل از سانتریفیوژ نمونه به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴۰ درجه سلسیوس درون آن قرار داده شدند. پس از تبخیر محلول، به میکروتیوب‌های حاوی نمونه‌ی خشک شده، ۵۰۰ میکرولیتر اسید سولفوریک ۸۵ درصد اضافه شد و ۱۰ دقیقه در دمای ۹۰ درجه سلسیوس در بن‌ماری قرار داده شدند. سپس ۳۰ میکرولیتر از نمونه همراه با ۲۷۰ میکرولیتر معرف وانیلین (۰/۱۲ گرم وانیلین در ۲ میلی‌لیتر آب مقطر و ۸ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۸۵٪) داخل چاهک پلیت الیزا ریخته شد. میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۴۵ نانومتر توسط دستگاه خوانده شده و این آزمایش ۳ بار تکرار شد.

محاسبه میزان لیپید کل با استفاده از منحنی استاندارد کلسترول صورت گرفت.

### اندازه‌گیری میزان کربوهیدرات کل

برای اندازه‌گیری میزان قند کل، ۳۰۰ میکرولیتر از محلول رونشین با ۲۰۰ میکرولیتر آب مقطر مخلوط شد. سپس به آن ۱۰۰۰ میکرولیتر معرف آنترون (۰/۲۵ گرم آنترون در ۲۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک) اضافه شد. برای انجام واکنش، نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۹۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند. بعد از آن ۲۵۰ میکرولیتر از نمونه داخل هر چاهک پلیت الیزا ریخته شد و میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۳۰ نانومتر خوانده شد. این آزمایش ۳ بار تکرار شد. میزان قند کل توسط منحنی استاندارد گلوکز محاسبه شد.

### اندازه‌گیری میزان گلیکوژن

برای سنجش گلیکوژن، ته‌نشین نمونه‌هایی که برای سنجش قند و چربی کل آماده شده بودند مورد استفاده قرار گرفت. برای حذف تمام باقیمانده‌های قند، رسوب حاصل از سانتریفیوژ نمونه دو مرتبه با متانول (هر بار ۲۵۰ میکرولیتر) شسته شد. بعد از افزودن ۲۵۰ میکرولیتر آب به آن، برای استخراج گلیکوژن به مدت ۷ دقیقه در دمای ۷۵ درجه سلسیوس قرار داده شد. سپس ۱۰۰۰ میکرولیتر معرف آنترون به آن اضافه گردید. از این مقدار ۲۰۰ میکرولیتر در هر چاهک پلیت الیزا ریخته شده و میزان جذب نمونه در طول موج ۶۳۰ نانومتر خوانده شد. این آزمایش ۳ بار تکرار شد. محاسبه میزان گلیکوژن با استفاده از منحنی استاندارد گلیکوژن صورت گرفت.

### اندازه‌گیری مقدار پروتئین کل

برای اندازه‌گیری مقدار پروتئین کل از روش بردفورد (Bradford, 1976) استفاده شد. بدین ترتیب که بدن یک حشره در ۲۵۰ میکرولیتر آب مقطر هموزنایز شده و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس و ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس ۱۰ میکرولیتر محلول رویی با ۵۰۰ میکرولیتر معرف رنگی کوماسی بلو<sup>۱</sup> درون میکروتیوب

<sup>۱</sup> . Coomassie blue

بافر هموژنیزه بود. جذب نمونه در دمای ۲۵ درجه سلسیوس تا مدت ۵ دقیقه به صورت سینتیک در طول موج ۴۹۲ نانومتر خوانده شد. فعالیت سیستم انتقال الکترون بر اساس میزان احیای یدونیتروترازولیوم تعیین شد. با استفاده از فرمول بیر-لامبرت<sup>۱</sup>  $A = \epsilon \cdot L \cdot C$  مقدار ماده فورمازان<sup>۲</sup> تشکیل شده در اثر احیای یدونیتروترازولیوم توسط NADH محاسبه شد. یدونیتروترازولیوم در واکنش فوق نقش اکسیژن را در زنجیره‌ی انتقال الکترون به عنوان گیرنده‌ی نهایی بر عهده دارد. مقدار فورمازان تشکیل شده شاخصی از مصرف اکسیژن می‌باشد و هر مول اکسیژن معادل ۴۸۴ کیلوژول مصرف انرژی است (Gnaiger, 1983). برای تبدیل میزان جذب به مقدار فورمازان تولید شده از ضریب خاموشی مولی  $\epsilon = 15900 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  استفاده شد.

### برآورد میزان تخصیص انرژی سلولی

با برآورد میزان انرژی در دسترس و میزان انرژی مصرفی می‌توان میزان انرژی سلولی را محاسبه کرد. بدین ترتیب که از تقسیم این دو منبع، میزان تخصیص انرژی سلولی به دست می‌آید. این میزان بر حسب ژول به ازای هر حشره گزارش شد.

### تجزیه داده‌های آماری

آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. غلظت کشنده ۳۰ درصد و ۹۵ درصد حدود اطمینان با استفاده از نرم‌افزار پولو پی‌سی<sup>۳</sup> به دست آمد (LeOra Software, 1987). اختلاف بین میانگین‌ها با استفاده از آزمون  $t$ -test تعیین شد (SAS Institute, 2002).

### نتایج و بحث

#### زیست سنجی قارچ *B. bassiana*

- A. داده‌های به دست آمده از تلفات پوره‌های سن پنجم  
B. *spinidens* نسبت به غلظت‌های آزمایش شده قارچ  
*bassiana* توسط نرم‌افزار POLO-PC مورد تجزیه قرار

مخلوط گردید. پس از ۵ دقیقه، جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۳۰ نانومتر خوانده شد. این آزمایش در ۳ تکرار انجام شد. محاسبه میزان پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد صورت گرفت.

### برآورد انرژی در دسترس

برای محاسبه میزان انرژی در دسترس سن‌های شکارگر تیمار شده با قارچ، پس از به دست آوردن مقدار هر کدام از ذخایر شامل لیپید، قند کل، گلیکوژن و پروتئین مجموع آنها برآورد شد. در ابتدا هر کدام از منابع انرژی به معادل تبدیل و بر حسب ژول گرمایی که در اثر سوخت آن‌ها تولید می‌شود، بیان شد. مطابق روش نایگر (Gnaiger, 1983) مقدار غلظت‌های به دست آمده در محتوای گرمایی ناشی از سوخت هر یک از چهار منبع انرژی ضرب و ارزش آن‌ها به انرژی گرمایی تبدیل شد. بعد از تبدیل، مقدار انرژی در دسترس در حشرات با جمع میزان منابع نامبرده به صورت ژول به ازای هر حشره برآورد شد.

### اندازه‌گیری انرژی مصرفی

میزان انرژی مصرفی را می‌توان با اندازه‌گیری فعالیت سیستم انتقال الکترون به دست آورد. برای این منظور اندازه‌گیری میزان انتقال الکترون با استفاده از روش کینگ و پاکارد (King and Packard, 1975) به شرح زیر انجام شد. برای انجام آزمایش، ابتدا یک حشره‌ی سن آندرالوس در ۲۰۰ میکرولیتر از بافر هموژنیزه (تریس ۰/۲ مولار، پلی وینیل پیرولیدن ۳۰ درصد، ۳/۶ میلی‌گرم سولفات منیزیم و ۰/۴ درصد تریتون X-100)  $\text{pH} = 8.5$  هموژنایز شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس در  $3000 \times \text{g}$  سانتریفوژ شد. بخش روشن‌شده جدا شد و به عنوان نمونه مورد استفاده قرار گرفت. ۴۰ میکرولیتر نمونه به ۱۲۰ میکرولیتر از محلول زیرنهشت حاوی بافر (تریس ۰/۱۳ مولار و ۰/۳ درصد تریتون X-100، ۱۱/۹ میلی‌گرم نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئید (NADH) و ۲/۱ میلی‌گرم نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئید فسفات (NADPH) در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر) با پی‌اچ ۸/۵ و ۸۰ میکرولیتر محلول بودونیتروترازولیوم ۸ میکرومولار اضافه و در هر چاهک پلیت الایزا ریخته شد. چاهک شاهد حاوی ۴۰ میکرولیتر

<sup>۱</sup> Beer-Lambert

<sup>۲</sup> Formazan

<sup>۳</sup> POLO-PC

گرفت. بر این اساس غلظت کشنده‌ی ۳۰ درصد ( $LC_{30}$ ) بر میلی لیتر محاسبه شد (جدول ۱).  
برای سن‌های تیمار شده با این قارچ مقدار  $10^5 \times 3$  کنیدی

جدول ۱- تجزیه پروبیت داده‌های زیست‌سنجی قارچ *Beauveria bassiana* روی پوره‌های سن پنجم *Andrallus spinidens*

Table 1. Probit analysis for the data of bioassay of *Beauveria bassiana* against fifth-instar nymphs of

Treatment	n <sup>a</sup>	LC <sub>30</sub> <sup>b</sup> (95% confidence limit)	Slope ±SE	$\chi^2$ (df)
<i>Beauveria bassiana</i>	200	$3 \times 10^5$ ( $61900-7 \times 10^5$ )	1.12 ± 0.22	2.03(3)

<sup>a</sup>Total number of the tested insects

<sup>b</sup>LC<sub>30</sub> value according to conidia ml<sup>-1</sup> and 95% confidence limit

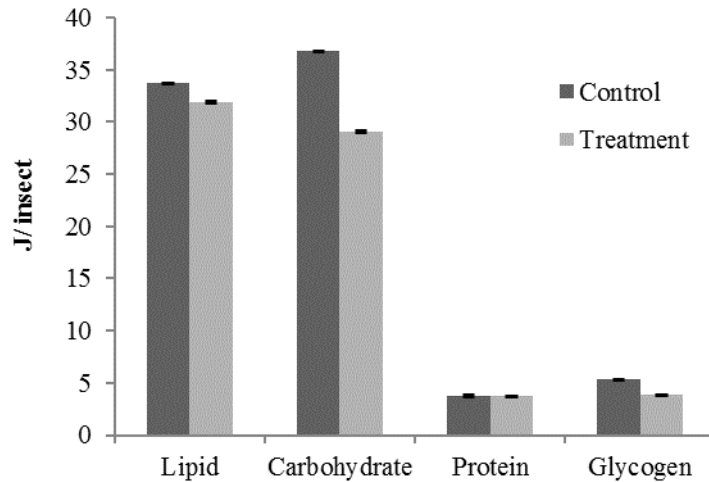
(Hussian, 1992). مطالعات زیادی حاکی از آن است که ذخایر چربی حشرات در رودرویی با عوامل تنش‌زا تحت تأثیر قرار می‌گیرند. این وضعیت در مورد برخورد با مواد سمی از جمله حشره‌کش‌ها به طور مکرر گزارش شده است (Bagheri *et al.*, 2010). عقیده بر این است که حشره‌کش‌های فسفره آلی می‌توانند سیالیت غشای سلول و محتوای لیپید را تحت تأثیر قرار دهند و در متابولیسم اسیدهای چرب اختلال ایجاد کنند (Labana *et al.*, 2003; Adamski *et al.*, 2001). در مورد تأثیر پاتوژن‌های بیماری‌زای حشرات روی ذخایر و متابولیسم انرژی حشرات منابع اندکی در دسترس است. کاربرد موضعی بتا-اگزوتوکسین باکتری *Bacillus israelensis* *turinginensis* در غلظت زیر کشنده،  $LC_{30}$ ، مقدار چربی کل را در لاروهای سن دوم *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) نسبت به شاهد به طور معنی‌داری کاهش داد (Abuldahab *et al.*, 2011). کاهش محتوای لیپید بدن حشرات ممکن است بخاطر فعال شدن بافت‌های لیپیدی باشد. به طور معمول در رودرویی با تنش ناشی از مواد خارجی این بافت‌های ذخیره‌ای فعال شده و انرژی لازم تولید می‌کنند.

### اثر قارچ *B. bassiana* روی متابولیسم انرژی

عوامل تنش‌زای مختلف در بدن حشرات تغییرات خاصی ایجاد می‌کنند که در پی آن موجودات زنده به روش‌های مختلف عکس‌العمل نشان می‌دهند. این پاسخ به شدت و مدت رودرویی با عوامل تنش‌زا بستگی دارد (Mrdaković *et al.*, 2003). ازین رو محققین بر این عقیده‌اند که ویژگی‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی نظیر متابولیسم و تغییر و تحولات انرژی می‌توانند به عنوان مارکرهای زیستی موفق و نیز معیار سنجش حیاتی یک حشره در عکس‌العمل به تنش مورد استفاده قرار گیرند (Verslycke *et al.*, 2004).

### میزان لیپید کل

مقایسه میانگین تأثیر قارچ *B. bassiana* روی میزان چربی حشرات نشان داد که بین تیمارها اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد وجود ندارد (  $T=3.64$ ,  $df=4$ ,  $P=0.022$  ) (شکل ۱). لیپیدها حاوی انرژی بسیار و اصلی‌ترین ذخایر مواد غذایی در بدن حشرات هستند (Downer and Matthews, 1976). این مواد نقش مهمی در حفظ ساختار و عملکرد سلول دارند. به طور طبیعی بیشتر حشرات با کمک ذخایر چربی به تنش‌های فیزیولوژیکی ایجاد شده توسط ترکیبات سمی یا آلوده‌کننده‌های زیست محیطی غلبه می‌کنند (Jamil and



شکل ۱- میزان ذخایر انرژی پوره‌های سن پنجم *Andrallus spinidens* در تیمار با *Beauveria bassiana*

Figure 1. Energy reserves content of fifth-instar nymphs of *Andrallus spinidens* treated by *Beauveria bassiana*

معنی‌داری در سطح ۵ درصد وجود ندارد (  $T=1.59$ ,  $df=4$ ,  $P=0.187$  ) طبق نتایج، میزان کربوهیدرات در سن‌های تیمار شده با قارچ ( $29/06 \pm 0/027$  ژول بر حشره) کمتر از شاهد ( $36/8 \pm 0/014$  ژول بر حشره) بود، هر چند که این کاهش اختلاف معنی‌داری بین دو تیمار نداشت. گرت و شوتر (Grant and Schoettger, 1972) عقیده دارند که متابولیسم کربوهیدرات‌ها در بدن، در نتیجه‌ی کاربرد آلوده‌کننده‌های مختلف، دچار اختلال می‌شود. هم افزایش و هم کاهش میزان کربوهیدرات، پس از تیمار حشرات با عوامل تنش‌زا گزارش شده است. یکی از دلایل کاهش میزان کربوهیدرات احتمالاً متابولیسم شدید این منبع برای رفع نیاز حشره به انرژی مورد نیاز جهت غلبه بر تنش است. افزایش میزان کربوهیدرات بعد از تیمار حشرات با مواد سمی نیز ممکن است با تنش‌های ایجاد شده توسط این ترکیبات سمی مرتبط باشد (Remia et al., 2008).

#### مقدار پروتئین کل

مقایسه میانگین تأثیر قارچ *B. bassiana* روی میزان پروتئین حشرات نشان داد که بین تیمارها اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد وجود ندارد (  $T=0.16$ ,  $df=4$ ,  $P=0.877$  ) طبق نتایج، میزان پروتئین در

#### میزان گلیکوژن

مقایسه میانگین تأثیر قارچ *B. bassiana* روی میزان گلیکوژن حشرات نشان داد که بین تیمارها اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد وجود ندارد (  $T=1.96$ ,  $df=4$ ,  $P=0.121$  ) طبق نتایج، میزان گلیکوژن در سن‌های تیمار شده با قارچ ( $3/83 \pm 0/012$  ژول بر حشره) کم‌تر از میزان گلیکوژن در حشرات شاهد ( $5/32 \pm 0/015$  ژول بر حشره) بود، هر چند که اختلاف معنی‌داری بین دو تیمار مشاهده نشد. گلیکوژن جزء ضروری متابولیسم طبیعی و یکی از مهم‌ترین ذخایر غذایی بافت جانوران است که به عنوان منبع انرژی فوری توسط جانوران در مواقع مورد نیاز مصرف می‌شود (Thunberg and Manchester, 1972). محققین مختلفی گزارش کردند که محتوای گلیکوژن بدن یک موجود ممکن است تحت تأثیر عوامل تنش‌زا قرار گیرد. چنانچه ممکن است در صورت نیاز به انرژی در مواجهه با تنش ناشی از مواد خارجی، گلیکوژن به عنوان منبع انرژی مورد استفاده قرار گیرد (Ribeiro et al., 2001).

#### میزان کربوهیدرات کل

مقایسه میانگین تأثیر قارچ *B. bassiana* روی میزان کربوهیدرات حشرات نشان داد که بین تیمارها اختلاف

### میزان انرژی در دسترس

مقایسه میانگین تأثیر قارچ *B. bassiana* روی میزان انرژی در دسترس حشرات نشان داد که بین تیمارها اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد وجود ندارد (  $T=2.7, df=4, P=0.054$  ) (شکل ۲). میزان این انرژی در حشرات تیمار شده با قارچ ( $68/53 \pm 0/28$  ژول بر حشره) در مقایسه با شاهد ( $79/61 \pm 0/03$  ژول بر حشره) کمتر بود. ولی از نظر آماری اختلافی معنی داری بین دو تیمار وجود نداشت. انرژی در دسترس، مجموع کل انرژی حاصل از محتوای لیپید، پروتئین، کربوهیدرات و گلیکوژن است. بررسی های متعدد حاکی از آن است که مواد تنش زا از جمله آفت کش ها می توانند با انرژی در دسترس تداخل ایجاد کنند. این وضعیت در سن های *A. spinidens* در رودرویی با آفت کش های فیتروتیون و کلرپیریفوس گزارش شد (Gholamzadeh Chitgar et al., 2014).

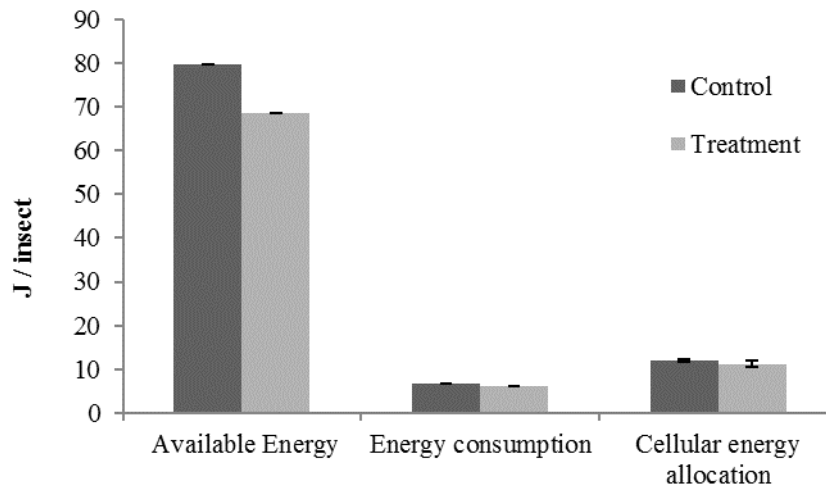
### میزان انرژی مصرفی

مقایسه میانگین تأثیر قارچ *B. bassiana* روی میزان انرژی مصرفی در حشرات نشان داد که بین تیمارها اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد وجود ندارد (  $T=1, df=4, P=0.374$  ) (شکل ۲). از آنجا که میزان انرژی مصرفی با اندازه گیری سیستم انتقال الکترون و میزان مصرف اکسیژن برآورد می شود، هر گونه تغییر در میزان انرژی مذکور تحت تأثیر مواد خارجی تنش زا می تواند به تغییر در میزان مصرف اکسیژن نسبت داده شود. وقتی سن های *A. spinidens* با آفت کش کلرپایریفوس تیمار شدند، میزان انرژی مصرفی بالاتری نسبت به شاهد نشان دادند (Gholamzadeh Chitgar et al., 2014).

سن های تیمار شده با قارچ ( $3/7 \pm 0/01$  ژول بر حشره) نسبت به حشرات شاهد ( $3/78 \pm 0/08$  ژول بر حشره) از نظر آماری اختلاف معنی داری نداشت. در تحقیق دیگری مشخص شد که ذخیره پروتئین همولنف پوره های ملخ *Schistocerca gregaria* Forskal (Orthoptera: Acrididae) تیمار شده با غلظت  $10^5$  اسپور قارچ *B. bassiana* کاهش یافت (Milat-Bissaad et al., 2011). نتیجه مشابهی در تیمار ملخ *S. gregaria* با غلظت  $7/5 \times 10^4$  کنیدی قارچ *M. anisopliae* var. *acridum* نیز مشاهده شد (Gillespie et al., 2000). پروتئین ها جزء اصلی تشکیل دهنده ی بافت های موجود زنده هستند و نقش مهمی در تولید انرژی ایفا می کنند. این ماکرومولکول ها اساس ساختار ماهیچه ها، غدد و سایر بافت های حشرات هستند و حدود ۲۰ درصد برخی از بافت ها مانند ماهیچه های پرواز را شامل می شوند (Landa et al., 1991). تنش های مختلف ممکن است مقدار پروتئین کل در حشرات را تحت تأثیر قرار دهند. به عنوان مثال، میزان پروتئین در سن های *A. spinidens* تیمار شده با  $LD_{30}$  آفت کش های فیتروتیون ( $287/66$  پی پی ام) و کلرپایریفوس ( $312/7$  پی پی ام) نسبت به شاهد بیشتر از ۲ برابر افزایش یافت (Gholamzadeh Chitgar et al., 2014). افزایش میزان پروتئین می تواند در نتیجه ی تنش ناشی از آفت کش ها و یا پاسخ به توقف تنش باشد. برخی محققین عقیده دارند که پروتئین های بافت های جانوری تحت تنش ترکیبات سمی، سازوکارهایی را فعال می کنند و هر گونه کاهش پروتئین با افزایش سنتز بافت پروتئین جبران می شود (Downer, 1982). حشرات از طریق افزایش سریع در تولید مجموعه ای از پلی پپتیدها به نام پروتئین های شوک گرما<sup>۱</sup> به تنش های شیمیایی و فیزیکی واکنش نشان می دهند (Zhao and Jones, 2012). افزایش مقدار پروتئین، تحت تأثیر عوامل خارجی تنش زا، ممکن است بخاطر افزایش آنزیم های سم زدا و افزایش فعالیت آن ها باشد (Shahid Ali et al., 2013).

<sup>1</sup> . Heat Shock Proteins (Hsps)





شکل ۲- میزان انرژی برآورد شده پوره‌های سن پنجم *Andrallus spinidens* در تیمار با *Beauveria bassiana*  
 Figure 2. Estimated the energy of fifth-instar nymphs of *Andrallus spinidens* treated by *Beauveria bassiana*

آفات نباید غافل بود. عقیده بر این است که اگر شکارگرها به طور مستقیم و یا غیرمستقیم، از طریق تغذیه با شکار آلوده و یا تماس با سطوح آلوده، در ارتباط با کنیدی‌های قارچ قرار گرفته و کارایی خود را به عنوان یک عامل کنترل زیستی از دست دهند، استفاده از قارچ‌های بیمارگر در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات، خالی از اشکال نخواهد بود. اما اگر قارچ مورد نظر در مقایسه با حشره‌کش‌ها، روی دشمن طبیعی تأثیر کمتری داشته باشد، قارچ حشره‌خوار می‌تواند به عنوان جزئی سازگار با دشمن طبیعی در این برنامه‌ها، در نظر گرفته شود (Strasser et al., 2000). در این راستا هوآنگ و همکاران (Huang et al., 2012) اثر غلظت‌های  $10^4$  و  $10^8$  کنیدی بر میلی‌لیتر از قارچ *B. bassiana* را روی کفشدوزک شکارگر، *Prynocaria congener* Billberg (Coleoptera; Coccinellidae) مورد بررسی قرار دادند. این محققین نتیجه گرفتند که استفاده از قارچ *B. bassiana* به همراه این شکارگر برای کنترل جوربالان (Homoptera: Westwood) (*Bemisia* و *Aleurodes disperses* Aleyrodidae) در مدیریت تلفیقی این آفات، قابل توصیه است. طبق مطالعه حاضر، غلظت زیرکشنده،  $3 \times 10^5$

### میزان تخصیص انرژی سلولی

مقایسه میانگین تأثیر قارچ *B. bassiana* روی میزان تخصیص انرژی در حشرات نشان داد که بین تیمارها اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد وجود ندارد (شکل ۲). (T=0.53, df=4, P=0.622). نشانگر زیستی تخصیص انرژی سلولی که نماینده‌ی میزان انرژی موجود است با اندازه‌گیری میزان منابع انرژی و میزان فعالیت سامانه‌ی انتقال الکترون در یک موجود، محاسبه می‌شود (De Coen and Janssen, 1997). چون تخصیص انرژی سلولی کسری از انرژی در دسترس به انرژی مصرفی است، بنابراین هر گونه کاهش انرژی در دسترس و یا افزایش انرژی مصرفی به کاهش تخصیص انرژی سلولی منجر می‌شود (Verslycke et al., 2004).

### نتیجه‌گیری کلی

با توجه به مخاطرات زیست محیطی ناشی از مصرف ترکیبات شیمیایی، امروزه کاربرد روش‌های کنترل بیولوژیکی آفات نظیر استفاده از حشره‌کش‌های میکروبی در حال گسترش است. در این راستا از تأثیر احتمالی این عوامل روی موجودات غیر هدف شامل دشمنان طبیعی

هرچند که نتیجه‌گیری دقیق‌تر احتمالاً نیازمند بررسی‌های بیشتری در شرایط مزرعه می‌باشد.

#### سپاسگزاری

این تحقیق با استفاده از امکانات پژوهشی دانشگاه گیلان انجام شده است. بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه سپاسگزاری می‌شود.

کنیدی بر میلی‌لیتر از قارچ *B. bassiana* روی پارامترهای بیوشیمیایی آزمایش شده‌ی سن شکارگر *A. spinidens* تغییری ایجاد نکرد. بر این اساس احتمال می‌رود تلفیق این دو عامل در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات با شکارگر مذکور فعالیت‌های زیستی آن را تحت تأثیر قرار ندهد.

#### References

- Abuldahab, F. F., Abozinadah N. Y. and Al- Haiqi, N. S.** 2011. Impact of *Bacillus thuringiensis*  $\beta$ -exotoxin to some biochemical aspects of *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). **Journal of Bacteriology Research** 3(6): 92-100.
- Adamski, Z., Ziemnick, K., Fila, K., Vžikic R. and Štajn, A.** 2003. Effects of long-term exposure to fenitrothion on *Spodoptera exigua* and *Tenebrio molitor* larval development and antioxidant enzyme activity. **Biology Letters** 40(1): 43-52.
- Bagheri, F., Talebi, Kh. and Hosseinaveh, 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(35): 5746-5753.
- Bradford, M.** 1976. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry** 72: 248- 254.
- Bridges, J.W., Benford, D. J. and Hubbard, S. A.** 1983. Mechanisms of toxic injury. **Annals of the New York Academy of Sciences** 407: 42-63.
- Calow, P. and Sibly, R.** 1990. A physiological basis of population processes: Ecotoxicological implications. **Functional Ecology** 4: 283-288.
- De Coen, W. M. and Janssen, C. R.** 1997. The use of biomarkers in *Daphnia magna* toxicity testing: IV. Cellular Energy Allocation: A new methodology to assess the energy budget of toxicant-stressed *Daphnia* populations. **Journal of Aquatic Ecosystem** 6: 43-55.
- De Coen, W. M., Janssen C. R. and Giesy J. P.** 2000. Biomarker applications in ecotoxicology: Bridging the gap between toxicology and ecology. In: Persoone, G., Jenessen C. and De Coen, W. (Eds.), *New Microbiotests for Routine Toxicity Screening and Biomonitoring*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, Pp. 13-27.
- Down, R. E., Cuthbertson, A. G. S., Mathers J. J. and Walters K. F. A.** 2009. Dissemination of the Entomopathogenic Fungi, *Lecanicillium longisporum* and *L. muscarium*, by the Predatory Bug, *Orius laevigatus*, to provide concurrent control of *Myzus persicae*, *Frankliniella occidentalis* and *Bemisia tabaci*. **Biological Control** 50: 172-178.
- Downer, R. G.** 1982. Fat body and metabolism. In: Bell W.J. and K. G. Adiyod (Eds.). *The American Cockroach*, Chapman and Hall, London, New York, pp. 371-397.
- Downer, R. G. and Matthews, J. R.** 1976. Patterns of lipid storage and utilization in insects. **American Zoologist** 16:733-745.
- Gao, Y., Reitz S. R., Wang J. and Lei, Z.** 2012. Potential of a strain of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Hypocreales: Cordycipitaceae) as a biological control agent against western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). **Biocontrol Science and Technology** 22: 491-495.
- Gholamzadeh Chitgar, M., Hajizadeh, J., Ghadamyari, M., Karimi-Malati, A. Sharifi, M. Hoda, H.** 2014. Cellular energy allocation in the predatory bug, *Andrallus spinidens* Fabricius (Hemiptera: Pentatomidae), following sublethal exposure to diazinon, fenitrothion, and chlorpyrifos. **Journal of Plant Protection Research** 54(1): 78-84.
- Gillespie, J. P., Burnett, C. and Charnley, A. K.** 2000. The immune response of the desert locust *Schistocerca gregaria* during mycosis of the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* var. *acridum*. **Journal of Insect Physiology** 46: 429-437.

- Gnaiger, E.** 1983. Calculation of energetic and biochemical equivalents of respiratory oxygen consumption. In: Gnaiger, E. and Forstner, H. (eds.), *Polarographic Oxygen Sensors. Aquatic and Physiologica Applications*. Springer Verlag, Berlin, pp. 337–345.
- Grant, B. F. and Schoettger, R. A.** 1972. The impact of organochlorine contamination on physiological functions in fish. Proc. Sessions. 19 th Annual meeting. Institute of Environmental Sciences. 18: 245-250.
- Huang, Z., Ali, S., Ren, S., Wu, J. and Zhang, Y.** 2012. Influence of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* on *Prynocaria congener* (Billberg) (Coleoptera: Coccinellidae) under laboratory conditions. **Pakistan Journal of Zoology** 44: 209-216.
- Jacobson, R. J., Chandler, D., Fenlon, J. and Russell, K. M.** 2001. Compatibility of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin with *Amblyseius cucumeris* Oudemans (Acarina: Phytoseiidae) to control *Frankliniella occidentalis* Pergande (Thysanoptera: Thripidae) on cucumber plants. **Biocontrol Science and Technology** 11: 391-400.
- Jamil, K. and Hussain, S.** 1992. Biotransfer of metals to the insect *Neochetina eichhornae* via aquatic plants. **Archive of Environmental Contamination and Toxicology** 22(4): 459-463.
- King, F. D. and Packard, T. T.** 1975. Respiration and respiratory electron transport system in marine zooplankton. **Limnology and Oceanography** 20: 846-854.
- Labana, S., Bansal R. C. and Mahmood, A.** 2001. Age related effects of organochlorine insecticide lindane on intestinal brush border membrane in rats. **Indian Journal of Experimental Biology** 39: 1017-1021.
- Landa, V., Sula, J., Marec, F., Matha, V. and Soldan, T.** 1991. Methods for Assessing Exposure of Insects. Published by John Wiley and Sons Ltd. pp. 249-266.
- LeOra Software.** 1987. POLO-PC: A user guide to probit or logit 786 analysis. LeOra software, Berkeley, California.
- Lorenz, M. W. and Gade, G.** 2009. Hormonal regulation of energy metabolism in insects as a driving force for performance. *Integrative and Comparative Biology* 49: 380-392.
- Manley, G. V.** 1982. Biology and life history of the rice field predator *Andrallus spinidens* F. (Heteroptera: Pentatomidae). **Entomological News** 93 (1): 19–24.
- Milat-Bissaad, F. Z., Bounaceur, F., Halouane, F., Behidj, N., Chebouti, N. and Doumandji-Mitiche, B.** 2011. Effect of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* on the haemolymph of the desert locust *Schistocerca gregaria* Tunis. **Journal of Plant Protection** 6: 127-132.
- Mohaghegh, J. and Najafi, I.** 2003. Predation capacity of *Andrallus spinidens* F. (Het.: Pentatomidae) on *Naranga aenescence* Moore (Lep.: Noctuidae) under semi-field and field conditions. **Applied Entomology and Phytopathology** 71: 57-68.
- Mrdaković, M., Ilijin, L., Vlahović, M., Janković-Tomanić, M., Perić Mataruga, V., Lazarević, J. and Nenadović, V.** 2003. The effects of different constant temperatures on the activity of corpora allata in *Morimus funereus* (Coleoptera: Cerambycidae) larvae. **Archive of Biological Science** 55: 21-22.
- Nageswara Rao, V.** 1965. *Andrallus* (Audineta) *spinidens* Fabr., as predator on rice pests. **Oryza** 2:179\_181.
- Rehner, S. A. and Buckley, E.** 2005. A *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1-a sequences: evidence for cryptic diversification and links to *Cordyceps teleomorphs*. **Mycologia** 97:84-98.
- Remia, K. M., Logaswamy, S., Logankumar, K., Rajmohan, D.** 2008. Effect of an insecticides (Monocrotophos) on some biochemical constituents of the fish *Tilapia Mossambica*. **Pollution Research** 27: 523-526.
- Ribeiro, S., Sousa, J. P., Nogueira A. J. A. and Soares, A. M. V. M.** 2001. Effect of endosulfan and parathion on energy reserves and physiological parameters of the terrestrial isopod *Porcellio dilatatus*. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 49: 131-138.
- SAS Institute.** 2002. SAS/STAT user's guide. SAS Institute Inc., Cary, NC Inc.
- Serebrov, V. V., Gerber, O. N., Malyarchuk, A. A., Martemyanov, V. V., Alekseev, A. A. Glupov, V. V.** 2006. Effect of Entomopathogenic Fungi on detoxification enzyme activity in reater wax moth *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) and role of detoxification

- enzymes in development of insect resistance to entomopathogenic fungi. **Biological Bulletin** 33 (6): 581–586.
- Shahid Ali, N., Shahid Ali, S. and Shakoori, A. R.** 2013. Effects of sublethal doses of malathion on biochemical components of malathion-resistant and susceptible adults of *Rhyzopertha dominica*. **Pakistan Journal of Zoology** 45(1): 203-212.
- Strasser, H., Vey, A. and Butt, T. M.** 2000. Are there any risks in using entomopathogenic fungi for pest control, with particular reference to the bioactive metabolites of *Metarhizium*, *Tolypocladium* and *Beauveria* species? **Biocontrol Science and Technology** 10: 717-735.
- Thomas, D. B.** 1994. Taxonomic synopsis of the old word Asopinae genera (Het.:Pentatomidae). **Annals of the Entomological Society of America** 8:145-212.
- Thunberg, L.V. and Manchester, K. L.** 1972. Effect of denervation on the glycogen content and on the activities of enzyme glucose and glycogen metabolism in rat diaphragm muscle. **Biochemical Journal** 128(4): 789-801
- Thungrabeab, M. and Tongma, S.** 2007. Effect of entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* (Balsam) and *Metarhizium anisopliae* (Metsch) on nontarget insects. **Kmitl Science and Technology Journal** 7: 8-12.
- Verslycke, T., Roast, S. D., Widdows, J., Jones, M. B., Janssen, C. R.** 2004. Cellular energy allocation and scope for growth in the estuarine mysid *Neomysis integer* (Crustacea: Mysidacea) following chlorpyrifos exposure: a method comparison. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 360: 1-16.
- Wraight, S. P., Carruthers, R. I., Bradleg, C. A., Jaronski, S. T., Lacey, L. A., Wood, P. and Galaini-Wroigh, S.** 1998. Pathogenicity of the entomopathogenic fungi *paecilomyces* spp. and *Beauveria bassiana* against the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. **Journal of Invertebrate Pathology** 71: 217–26.
- Yuval, B., Holliday Hanson M. and Wahsino, R. K.** 1994. Energy budget of swarming male mosquitoes. **Ecological Entomology** 95 (2): 399-406.
- Zhao, L. and Jones, W. A.** 2012. Expression of heat shock protein genes in insect stress responses. **Minireview** 9: 93-101.

## Effect of sublethal concentration of *Beauveria bassiana* on cellular energy allocation in the predatory bug, *Andrallus spinidens* Fabricius (Hem.: Pentatomidae)

M. Gholamzadeh-Chitgar<sup>1,2\*</sup>, J. Hajizadeh<sup>1</sup>, M. Ghadamyari<sup>1</sup>, A. Karimi-Malati<sup>1</sup> and H. Hoda<sup>3</sup>

1. Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Science, University of Guilan, Rasht, Iran.  
2. Plant Protection Research Department, Mazandaran Agricultural and Natural Resources Research Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Sari, Iran. 3. Iranian Research Institute of Plant Protection, Department of Biological Control, Amol, Iran

(Received: November 4, 2015 - Accepted: February 28, 2016)

---

### Abstract

The predatory bug, *Andrallus spinidens* Fabricius (Hemiptera: Pentatomidae), is a potential biological control agent of lepidopterous larvae in the rice fields of Iran. In the present research, the sublethal effects of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* were studied on the cellular energy allocation (CEA) of this predator. Conidia suspensions were prepared in five concentrations of  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$ ,  $10^7$  and  $10^8$  conidia  $ml^{-1}$ . Fifth-instar nymphs of *A. spinidens* were immersed in fungal suspensions for 10 seconds. After bioassay and data analysis, the effect of  $LC_{30}$  of *B. bassiana* were investigated at  $25 \pm 2$  °C,  $60\% \pm 10\%$  relative humidity and a photoperiod of 16:8 h (L: D). The amounts of available energy (including carbohydrate, glycogen, lipid and protein), energy consumption and cellular energy allocation were estimated. No significant difference was observed in the amounts of available and consumption energies in the treated insects ( $68.53 \pm 0.028$  and  $6.10 \pm 0.01$  j/insect, respectively) compared with control ( $79.61 \pm 0.03$  and  $6.63 \pm 0.01$  j/insect, respectively). Estimation of cellular energy allocation showed that treated bugs had a lower amount of energy ( $11.22 \pm 0.75$  j/insect) compared with control ( $12 \pm 0.37$  j/insect), but difference did not cause statistically significant. According to the present study, the sublethal concentration of *B. bassiana* ( $3 \times 10^5$  conidia  $ml^{-1}$ ) was not caused any significant effect on the biochemical parameters of *A. spinidens*.

**Key words:** Predatory bug, sublethal concentration, entomopathogenic fungus cellular energy allocation

---

\*Corresponding author: b\_gh.chitgar60@yahoo.com