بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده علوم کشاورزی

گروه گیاه‌پزشکی

(حشره‌شناسی کشاورزی)

پاسخ‌های ایمنی زنبور برگ‌خوار رز ***Arge rosae*** **(Hym; Argidae)** **و پروانه برگ‌خوار توت** ***Glyphodes pyloalis*** **(Lep; Pyralidae)** **به قارچ** ***Beauveria bassiana***، **هورمون جوانی و اکدایزون**

از:

رویا خسروی

استاد راهنما:

دکتر جلال جلالی سندی

استادان مشاور:

دکتر محمد علی شکرگزار

دکتر آرش زیبایی دیوشلی

تیرماه ۱۳۹۳

تقدیم به

پدر و مادر عزیزم

که امروزم آرزوی دیروزشان بود

برادران بزرگوارم

حامیان همیشگی‌ام

خواهران مهربانم

که وجودشان شادی‌بخش زندگی‌ام است

تقدیر و تشکر

شکر شایان نثار ایزد منان که توفیق رارفیق راهم ساخت تامرحله ای دیگر از زندگی رابا موفقیت سپری کنم. حال که این رساله به پایان رسیده است، بر خود واجب می دانم از همه عزیزانی که در به نتیجه رسیدن آن از هیچ تلاشی مضایقه نکردند تشکر و قدردانی نمایم.

تحت از پدر و مادر عزیزم و سایر افراد خانواده به خاطر تمام همراهی و مهربانی هایشان در تمام طول زندگی و تحصیل صمیمانه سپاسگزارم و از خداوند بهترین ها را برایشان آرزومندم. سپاس فراوان پیشکش استاد بزرگ علم، ادب و اخلاق جناب آقای دکتر جلال جلالی سندی که راهنمائی های ایشان همواره راه گشای امور تحقیقاتی من بوده، برای ایشان آرزوی سعادت و توفیق دارم. از اساتید مشاور محترم جناب آقای دکتر محمد علی سنگرگزار و جناب آقای دکتر آرش زیبایی به خاطر حمایت و راهنمایی های علمی شان کمال تشکر را دارم. از اساتید گرامی جناب آقای دکتر علیرضا بندانی، جناب آقای دکتر جلیل حاجی زاده و جناب دکتر محمد قدمیاری که زحمت باز خوانی و داوری این مجموعه را بر عهده داشتند قدردانی می کنم. از آقای دکتر حسینی مقدم نماینده محترم تحصیلات تکمیلی در جلسه دفاع کمال تشکر را دارم. از اساتید گرانقدرم جناب دکتر صحرا گرد و جناب دکتر حسینی و سایر اساتید محترم گروه گیاه پزشکی که مدت ۱۱ سال افتخار شاگردیشان را داشتم صمیمانه تشکر و قدردانی می نمایم. از کارکنان محترم گروه گیاه پزشکی مهندس سلیمی، آقایان خاتمی و خشنود تشکر می کنم.

از پروفسور کارل اسلاما جهت ارسال هورمون جوانی و اکدایزون، از دکتر فایبو برایسر جهت همکاری صمیمانه در تهیه تصاویر میکروسکوپ الکترونی، از دکتر کیوان اعتباری و سرکار خانم دکتر لیلا متین دوست جهت ارسال مقالات ارزنده تشکر و قدردانی می کنم. از تمامی دوستان و همکلاسی هایم خانم ها و آقایان مرادی، شیرازی، الهی، معماری زاده، یزدانی، رمزی، رامرودی، مهری، والی زاده، غلام زاده، مداحی، افتاده، باغبان، چگینی، عجم حسنی، دهاقین، فیروزی، رجبون، تابش، محمد زاده، بشری کمال تشکر و قدردانی را دارم.

رویا خسروی

تیرماه ۹۳

عنوان

چکیده فارسی----------ش
چکیده انگلیسی----------ش
مقدمه ----------۱
فصل اول----------۵
۱-۱-۱- دفاع مورفولوژیکی:----------۶
۱-۱-۲- دفاع رفتاری ----------۷
۱-۱-۳- دفاع بیوشیمیایی ----------۸
۱-۱-۴- دفاع شیمیایی----------۹
۱-۲- ایمنی اختصاصی در حشرات ---------- ۱۰
۱-۲-۱- منشأ ایمنی ذاتی در حشرات ---------- ۱۰
۱-۲-۱-۱- اجسام چربی ---------- ۱۰
۱-۲-۱-۲- سلول‌های خونی ---------- ۱۱
۱-۲-۲- پروتئین‌های تشخیص الگو/ گیرنده‌ها ---------- ۱۱
۱-۲-۳- ایمنی سلولی---------- ۱۳
۲-۲-۳-۱- سلول خونی (هموسیت) ---------- ۱۳
۱-۲-۳-۲- بیگانه‌خواری ---------- ۱۸
۱-۲-۳-۳- تشکیل گره---------- ۱۹
۱-۲-۳-۴- کپسوله شدن ---------- ۲۰
۱-۲-۳-۵- ملانیزاسیون ---------- ۲۱
۱-۲-۴- پاسخ‌های هومورال---------- ۲۲
۱-۲-۴-۱- پپتیدهای ضد میکروبی (AMPs) ---------- ۲۲
۱-۲-۴-۲- پیش فنل اکسیداز و فنل اکسیداز، ساختارها و انواع---------- ۲۴
۱-۲-۵- اثرات متقابل سامانه ایمنی حشرات با عوامل میکروبی:---------- ۲۷
۱-۳- هورمون جوانی و اکدایزون ---------- ۳۱
۱-۴- کشت سلول حشرات ---------- ۳۴
۱-۵- قارچهای بیمارگر حشرات---------- ۳۷
۱-۵-۱- قارچ بیمارگر *B. bassiana* ---------- ۳۸
۱-۶- حشرات مورد مطالعه ---------- ۳۹
۱-۶-۱- زنبور برگ‌خوار رز *A. rosae*---------- ۳۹

۱-۶-۲- پروانه برگ‌خوار توت *G. pyloalis* ---------- ۳۹
فصل دوم ---------- ۴۱
۲- مواد، دستگاه‌ها و روش‌ها ---------- ۴۲
۲-۱- مواد و دستگاه‌های مورد استفاده ---------- ۴۲
۲-۲- پرورش حشرات ---------- ۴۳
۲-۳- شمارش تفریقی و کل سلول‌های خونی با میکروسکوپ نوری ---------- ۴۴
۲-۴- شناسایی سلول‌های خونی با میکروسکوپ فاز متضاد ---------- ۴۵
۲-۵- توصیف سلول‌های خونی با میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) ---------- ۴۵
۲-۶- مشاهده سلول‌های خونی با میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) ---------- ۴۶
۲-۷- جدایه‌های قارچی مورد استفاده ---------- ۴۶
۲-۸- کشت قارچ بیمارگر *B. bassiana* و تهیه غلظت‌ها ---------- ۴۷
۲-۹- آزمایش‌های زیست‌سنجی قارچ بیمارگر *B. bassiana* ---------- ۴۷
۲-۱۰- تزریق اسپورهای جدایه IRAN 403C قارچ *B. bassiana* و گویچه‌های پلی‌استر به لاروهای سن ۵ دو روزه ---- ۴۸
۲-۱۱- بررسی تأثیر اسپورهای قارچ *B. bassiana* و گویچه‌های پلی‌استر روی تعداد کل سلول‌های خونی ---------- ۴۹
۲-۱۲- اتصال برچسب فلورسنت به اسپورهای *B. bassiana* ---------- ۴۹
۲-۱۳- تاثیر اسپورهای قارچ *B. bassiana* روی بیگانه‌خواری سلول‌های خونی ---------- ۵۰
۲-۱۴- بررسی تاثیر اسپورهای قارچ *B. bassiana* و گویچه‌های پلی‌استر در تشکیل گره ---------- ۵۱
۲-۱۵- اندازه‌گیری فعالیت آنزیم فنل اکسیداز پس از تزریق اسپورهای قارچ *B. bassiana* و گویچه‌های پلی‌استر ---------- ۵۱
۲-۱۶- تعیین میزان پروتئین ---------- ۵۱
۲-۱۷- تأثیر هورمون اکدایزون و هورمون جوانی I روی تعداد کل سلول‌های خونی، پلاسماتوسیت‌ها، گرانولوسیت‌ها و واکنش تشکیل گره و میزان فعالیت آنزیم فنل اکسیداز ---------- ۵۱
۲-۱۸- کشت اولیه سلول‌های خونی لارو زنبور برگ‌خوار رز *A. rosae* ---------- ۵۲
۲-۱۸-۱- آماده‌سازی کشت اولیه ---------- ۵۳
۲-۱۸-۲- پاساژ کشت اولیه سلول‌های خونی ---------- ۵۳
۲-۱۹- ارزیابی ویژگی‌های رده سلولی ---------- ۵۳
۲-۱۹-۱- شمارش سلول ---------- ۵۳
۲-۱۹-۲- تعیین منحنی رشد و زمان مضاعف شدن جمعیت سلولی ---------- ۵۴
۲-۲۰- بررسی فعالیت بیگانه‌خواری سلول‌های خونی کشت شده لارو زنبور برگ‌خوار رز ---------- ۵۴
۲-۲۱- تأثیر هورمون اکدایزون روی سلول‌های خونی کشت شده ---------- ۵۴
۲-۲۲- تجزیه و تحلیل آماری ---------- ۵۴
فصل سوم ---------- ۵۶

۳-۱- شناسایی سلول‌های خونی در لارو زنبور برگ‌خوار رز *A. rosae* و لارو پروانه برگ‌خوار توت *G. pyloalis*---------- ۵۷
۳-۱-۱- پروهموسیت‌ها ---------- ۵۷
۳-۱-۲- پلاسماتوسیت‌ها ---------- ۵۸
۳-۱-۳- گرانولوسیت‌ها ---------- ۶۰
۳-۱-۴- انوسیتوئیدها ---------- ۶۱
۳-۲-۵- اسفرولوسیت‌ها ---------- ۶۲
۳-۳- تعداد کل سلول‌های خونی در زنبور برگ‌خوار رز *A. rosae* و پروانه برگ‌خوار توت *G. pyloalis*---------- ۷۰
۳-۴- شمارش تفریقی سلول‌های خونی در زنبور برگ‌خوار رز *A. rosae* و پروانه برگ‌خوار توت *G. pyloalis*---------- ۷۲
۳-۵- بیمارگری جدایه‌های قارچ *B. bassiana* روی لاروهای زنبور برگ‌خوار رز *A. rosae* و پروانه برگ‌خوار توت *G. pyloalis*---------- ۷۵
۳-۶-پاسخ ایمنی لاروهای زنبور برگ‌خوار رز *A. rosae* و پروانه برگ‌خوار توت *G. pyloalis* به اسپورهای جدایه IRAN 403C قارچ بیمارگر *B. bassiana* و گویچه‌های پلی‌استر ---------- ۷۸
۳-۶-۱- تأثیر اسپورهای قارچ *B. bassiana* و گویچه‌های پلی‌استر روی تعداد کل سلول‌های خونی ---------- ۷۸
۳-۶-۲- تاثیر اسپورهای قارچ *B. bassiana* و گویچه‌های پلی‌استر روی شمارش تفریقی سلول‌های خونی ---------- ۸۲
۳-۶-۳- بررسی فعالیت بیگانه‌خواری سلول‌های خونی لارو زنبور برگ‌خوار رز *A. rosae* و پروانه برگ‌خوار توت *G. pyloalis* در مقابل اسپورهای قارچ *B. bassiana*---------- ۸۸
۳-۶-۴- بررسی واکنش تشکیل گره در لارو زنبور برگ‌خوار رز *A. rosae* و پروانه برگ‌خوار توت *G. pyloalis* در مقابل اسپورهای قارچ *B. bassiana* و گویچه‌های پلی‌استر ---------- ۹۰
۳-۶-۵- بررسی میزان فعالیت آنزیم فنل اکسیداز در همولنف لارو زنبور برگ‌خوار رز *A. rosae* و پروانه برگ‌خوار توت *G. pyloalis* در مقابل اسپورهای قارچ *B. bassiana* و گویچه‌های پلی‌استر ---------- ۹۴
۳-۷-تأثیر اکدایزون و هورمون جوانی روی واکنش‌های ایمنی لارو زنبور برگ‌خوار رز *A. rosae* و پروانه برگ‌خوار توت *G. pyloalis* آلوده به اسپورهای قارچ *B. bassiana* ---------- ۹۶
۳-۷-۱ تأثیر اکدایزون و هورمون جوانی روی تعداد کل سلول‌های خونی لارو زنبور برگ‌خوار رز *A. rosae* و پروانه برگ‌خوار توت *G. pyloalis* آلوده به اسپورهای قارچ *B. bassiana*---------- ۹۶
۳-۷-۲ تأثیر اکدایزون و هورمون جوانی روی جمعیت پلاسماتوسیت‌ها و گرانولوسیت‌ها در همولنف لارو زنبور برگ‌خوار رز *A. rosae* و پروانه برگ‌خوار توت *G. pyloalis* آلوده به اسپورهای قارچ *B. bassiana* ---------- ۱۰۱
۳-۷-۳- تأثیر اکدایزون و هورمون جوانی روی واکنش تشکیل گره در همولنف لارو زنبور برگ‌خوار رز *A. rosae* و پروانه برگ‌خوار توت *G. pyloalis* آلوده به اسپورهای قارچ *B. bassiana*---------- ۱۰۶
۳-۷-۴- تأثیر اکدایزون و هورمون جوانی روی میزان فعالیت آنزیم فنل اکسیداز در همولنف لارو زنبور برگ‌خوار رز *A. rosae* و پروانه برگ‌خوار توت *G. pyloalis* آلوده به اسپورهای قارچ *B. bassiana* ---------- ۱۱۰
۳-۸- کشت سلول ---------- ۱۱۴

۳-۸-۱- توصیف جزئی کشت اولیه سلول‌های خونی زنبور برگ‌خوار رز ---------- ۱۱۴
۳-۸-۲- رشد سلول‌های خونی کشت داده شده زنبور برگ‌خوار رز *A. rosae* ---------- ۱۱۶
۳-۸-۳- پاسخ سلول‌های خونی کشت شده به اکدایزون ---------- ۱۱۶
۳-۸-۴- پاسخ سلول‌های خونی کشت شده لارو زنبور برگ‌خوار رز به ذرات خارجی و قارچ *B. bassiana* --------- ۱۱۸
۳-۹- نتیجه‌گیری کلی ---------- ۱۱۹
۳-۱۰- پیشنهادات ---------- ۱۲۱
فهرست منابع ---------- ۱۲۲
پیوست‌ها ---------- ۱۳۷

جدول ۲-۱- فهرست مواد شیمیایی مورد استفاده ---------- ۴۲
جدول ۲-۲- فهرست دستگاه‌های مورد استفاده ---------- ۴۳
جدول ۲-۳ مشخصات جدایه‌های قارچ *Beauveria bassiana* استفاده شده در آزمایش‌های زیست‌سنجی ---------- ۴۷
جدول ۳-۱- برآورد LC_{20} و LC_{50} همراه با محدوده اطمینان ۹۵٪ جدایه‌های *Beauveria bassiana* روی لارو پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* و زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* ---------- ۷۶
جدول ۳-۲- مقایسه سمیت نسبی جدایه‌های قارچ *Beauveria bassiana* (LC_{50} به دست آمده در لاروهای زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* تقسیم بر LC_{50} لاروهای پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis*).---------- ۷۶
جدول ۳-۳- تأثیر تزریق اسپورهای *Beauveria bassiana* و گویچه‌های پلی‌استر بر میانگین تعداد پلاسماتوسیت‌ها × 10^4 در همولنف لارو زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae*---------- ۸۳
جدول ۳-۴- تأثیر تزریق اسپورهای *Beauveria bassiana* و گویچه‌های پلی‌استر بر میانگین تعداد گرانولوسیت‌ها × 10^4 در همولنف لارو زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae*---------- ۸۳
جدول ۳-۵- تأثیر تزریق اسپورهای *Beauveria bassiana* و گویچه‌های پلی‌استر بر میانگین تعداد انوسیتوئیدها × 10^4 در همولنف لارو زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae*---------- ۸۳
جدول ۳-۶- تأثیر تزریق اسپورهای *Beauveria bassiana* و گویچه‌های پلی‌استر بر میانگین تعداد پروهموسیت‌ها × 10^4 در همولنف لارو زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae*---------- ۸۴
جدول ۳-۷- تأثیر تزریق اسپورهای *Beauveria bassiana* و گویچه‌های پلی‌استر بر میانگین تعداد پلاسماتوسیت‌ها × 10^4 در همولنف لارو پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis*---------- ۸۵
جدول ۳-۸- تأثیر تزریق اسپورهای *Beauveria bassiana* و گویچه‌های پلی‌استر بر میانگین تعداد گرانولوسیت‌ها × 10^4 در همولنف لارو پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis*---------- ۸۵
جدول ۳-۹- تأثیر تزریق اسپورهای *Beauveria bassiana* و گویچه‌های پلی‌استر بر میانگین تعداد انوسیتوئیدها × 10^4 در همولنف لارو پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis*---------- ۸۶
جدول ۳-۱۰- تأثیر تزریق اسپورهای *Beauveria bassiana* و گویچه‌های پلی‌استر بر میانگین تعداد اسفرولوسیت‌ها × 10^4 در همولنف لارو پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis*---------- ۸۶
جدول ۳-۱۱- تأثیر تزریق اسپورهای *Beauveria bassiana* و گویچه‌های پلی‌استر بر میانگین تعداد پروهموسیت‌ها × 10^4 در همولنف لارو پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis*---------- ۸۶
جدول ۳-۱۲- میانگین ± خطای استاندارد تعداد پلاسماتوسیت‌ها و گرانولوسیت‌ها× 10^4 در همولنف لارو پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* آلوده به اسپورهای قارچ *Beauveria bassiana* ۳، ۶ و ۱۲ ساعت پس از تیمار با اکدایزون --------۱۰۴
جدول ۳-۱۳- میانگین ± خطای استاندارد تعداد پلاسماتوسیت‌ها و گرانولوسیت‌ها × 10^4 در همولنف لارو پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* آلوده به اسپورهای قارچ *Beauveria bassiana* ۳، ۶ و ۱۲ ساعت پس از تیمار با هورمون جوانی ----------۱۰۵
جدول ۳- ۱۴- فعالیت بیگانه‌خواری سلول‌های خونی کشت شده زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae*----------۱۱۸

شکل ۲-۱- نمایی از پرورش پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* و زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* در اتاقک رشد (اصلی).....۴۴
شکل ۲-۲- نحوه تزریق به لارو (اصلی).....۴۹
شکل ۳-۱- سلول‌های خونی لارو زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* رنگ‌آمیزی شده با گیمسا جهت مشاهده با میکروسکوپ نوری. پروهموسیت (A)، اشکال مختلف پلاسماتوسیت (B, C, D, E)، گرانولوسیت (F)، انوسیتوئید (G)، سلول‌های خونی در مراحل مختلف تقسیم میتوزی (H، I). مقیاس: ۵ میکرومتر ۶۳
شکل ۳-۲- سلول‌های خونی لارو زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی. پروهموسیت (A)، پلاسماتوسیت (B و C)، گرانولوسیت (D) و انوسیتوئید (E). مقیاس: ۲ میکرومتر ۶۴
شکل ۳-۳- تصاویر گرفته شده از سلول‌های خونی زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری. پروهموسیت (A)، پلاسماتوسیت بدون گرانول (B)، پلاسماتوسیت‌های دارای گرانول (E و D، C)، گرانولوسیت (G و F) و انوسیتوئید (H). هسته (N)، هستک (Nu)، میتوکندری (M)، شبکه اندوپلاسمیک دانه‌دار (RER)، گرانول‌ها (G)، گرانول‌های سازماندهی شده (Sg)، میکروتوبول‌ها (Mt) ۶۶
شکل۳-۴- سلول‌های خونی لارو پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* رنگ‌آمیزی شده با گیمسا جهت مشاهده با میکروسکوپ نوری. پروهموسیت (A)، اشکال مختلف پلاسماتوسیت (B)، گرانولوسیت (C)، اسفرولوسیت (D)، انوسیتوئید (E). مقیاس: ۵ میکرومتر ۶۷
شکل ۳-۵- سلول‌های خونی لارو پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* با استفاده از میکروسکوپ اختلاف فاز. پروهموسیت (A)، پلاسماتوسیت (B)، گرانولوسیت (C)، اسفرولوسیت (D)، انوسیتوئید (E). مقیاس: ۵ میکرومتر ۶۷
شکل ۳-۶- تصاویر سلول‌های خونی لارو پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی. پروهموسیت (A)، پلاسماتوسیت (B)، گرانولوسیت (C)، انوسیتوئید (D).....۶۸
شکل ۳-۷- سلول‌های خونی لارو پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری. پروهموسیت (A)، پلاسماتوسیت (B، C و D)، گرانولوسیت (E)، انوسیتوئید (F) و اسفرولوسیت (G). هسته (N)، هستک (Nu)، میتوکندری (M)، شبکه اندوپلاسمیک دانه‌دار (RER)، گرانول‌ها (G)، گرانول‌های سازماندهی شده (Sg)، میکروتوبول‌ها (Mt).....۷۰
شکل ۳-۸ - تعداد کل سلول‌های خونی آزاد (میانگین ± خطای استاندارد) در مراحل رشدی زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* ۷۱
شکل۳-۹- تعداد کل سلول‌های خونی آزاد (میانگین ± خطای استاندارد) در مراحل رشدی پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis*.....۷۲
شکل ۳-۱۰- شمارش تفریقی سلول‌های خونی آزاد (میانگین ± خطای استاندارد) در زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* ستون‌هایی که دارای حروف یکسان هستند اختلاف معنی‌دار با یکدیگر در مراحل رشدی مختلف ندارند ($p \leq 0.05$). ۷۴

شکل ۳-۱۱- شمارش تفریقی سلول‌های خونی آزاد (میانگین ± خطای استاندارد) در پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis*. ستون‌هایی که دارای حروف یکسان هستند اختلاف معنی‌دار با یکدیگر در مراحل رشدی مختلف ندارند ($p \leq 0.05$). ۷۴

شکل ۳-۱۲- میانگین ± خطای استاندارد تعداد کل سلول‌های خونی (سلول × ۱۰^{۴}/ میلی‌لیتر) زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* آلوده به اسپورهای *Beauveria bassiana*. ستون‌هایی که دارای حروف یکسان هستند اختلاف معنی‌دار با یکدیگر در همان زمان ندارند ($p \leq 0.05$). ۸۰

شکل ۳-۱۳- میانگین ± خطای استاندارد تعداد کل سلول‌های خونی (سلول × ۱۰^{۴}/ میلی‌لیتر) پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* آلوده به اسپورهای *Beauveria bassiana*. ستون‌هایی که دارای حروف یکسان هستند اختلاف معنی‌دار با یکدیگر در همان زمان ندارند ($p \leq 0.05$) ۸۱

شکل۳-۱۴- میانگین ± خطای استاندارد درصد فعالیت بیگانه‌خواری در محیط *in vivo* و *in vitro* اسپورهای قارچ *Beauveria bassiana* توسط پلاسماتوسیت‌ها و گرانولوسیت‌ها در لاروهای پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* (A) و لاروهای زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* (B) ۸۹

شکل ۳-۱۵- واکنش بیگانه‌خواری در مقابل اسپورهای قارچ *Beauveria bassiana* در سلول‌های خونی لارو پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* (A) و سلول‌های خونی لارو زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* (B). ۸۹

شکل ۳-۱۶- میانگین ± خطای استاندارد تعداد گره‌های تشکیل شده در لارو زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* در زمان‌های مختلف پس از تزریق اسپور *Beauveria bassiana* و گویچه‌های پلی‌استر. ستون‌هایی که دارای حروف یکسان هستند اختلاف معنی‌دار با یکدیگر در همان زمان ندارند ($p \leq 0.05$). ۹۱

شکل ۳-۱۷- میانگین ± خطای استاندارد تعداد گره‌های تشکیل شده در لارو پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* در زمان‌های مختلف پس از تزریق اسپور قارچ *Beauveria bassiana* و گویچه‌های پلی‌استر. ستون‌هایی که دارای حروف یکسان هستند اختلاف معنی‌دار با یکدیگر در همان زمان ندارند ($p \leq 0.05$). ۹۲

شکل ۳-۱۸- واکنش تشکیل گره در لارو *Glyphodes pyloalis* پس از تزریق اسپور قارچ *Beauveria bassiana* . در همولنف لارو پروانه برگ‌خوار توت (A) و همولنف لارو زنبور برگ‌خوار رز (B). مقیاس: ۲۰ میکرومتر ۹۲

شکل ۳-۱۹- میزان فعالیت آنزیم فنل اکسیداز (میانگین ± خطای استاندارد) در زمان‌های مختلف پس از تزریق اسپور *Beauveria bassiana* و گویچه‌های پلی‌استر در همولنف لارو زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* (A) همولنف پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* (B). ستون‌هایی که دارای حروف یکسان هستند اختلاف معنی‌دار با یکدیگر در همان زمان ندارند ($p \leq 0.05$). ۹۵

شکل ۳-۲۰- تأثیر مقادیر مختلف اکدایزون (میلی‌گرم/میلی‌لیتر) بر تعداد کل سلول‌های خونی (میانگین ± خطای استاندارد) در لارو زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* آلوده به اسپورهای قارچ *Beauveria bassiana*. ستون‌هایی که دارای حروف یکسان هستند اختلاف معنی‌دار با یکدیگر در همان زمان ندارند ($p \leq 0.05$). ۹۷

شکل ۳-۲۱- تأثیر مقادیر مختلف اکدایزون (میلی‌گرم/ میلی‌لیتر) روی تعداد کل سلول‌های خونی (میانگین ± خطای استاندارد) لاروهای پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* تیمار شده با اسپورهای قارچ *Beauveria bassiana*. ستون‌هایی که دارای حروف یکسان هستند اختلاف معنی‌دار با یکدیگر در همان زمان ندارند ($p \leq 0.05$). ۹۸
شکل ۳-۲۲- تأثیر مقادیر مختلف هورمون جوانی (میلی‌گرم/میلی‌لیتر) بر تعداد کل سلول‌های خونی (میانگین ± خطای استاندارد) در لارو زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* آلوده به اسپورهای قارچ *Beauveria bassiana*. ستون‌هایی که دارای حروف یکسان هستند اختلاف معنی‌دار با یکدیگر در همان زمان ندارند ($p \leq 0.05$). ۹۹
شکل ۳-۲۳- تأثیر مقادیر مختلف هورمون جوانی (میلی‌گرم/ میلی‌لیتر) روی تعداد کل سلول‌های خونی (میانگین ± خطای استاندارد) لاروهای پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* تیمار شده با اسپورهای قارچ *Beauveria bassiana*. ستون‌هایی که دارای حروف یکسان هستند اختلاف معنی‌دار با یکدیگر در همان زمان ندارند ($p \leq 0.05$). ۱۰۰
شکل ۳-۲۴- تأثیر مقادیر مختلف اکدایزون (میلی‌گرم/میلی‌لیتر) بر تعداد پلاسماتوسیت‌ها (میانگین ± خطای استاندارد) (A) و گرانولوسیت‌ها (میانگین ± خطای استاندارد) (B) در لارو زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* آلوده به اسپورهای قارچ *Beauveria bassiana*. ستون‌هایی که دارای حروف یکسان هستند اختلاف معنی‌دار با یکدیگر در همان زمان ندارند ($p \leq 0.05$). ۱۰۲
شکل ۳-۲۵- تأثیر مقادیر مختلف هورمون جوانی (میلی‌گرم/میلی‌لیتر) بر تعداد پلاسماتوسیت‌ها (میانگین ± خطای استاندارد) (A) و گرانولوسیت‌ها (میانگین ± خطای استاندارد)(B) در لارو زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* آلوده به اسپورهای قارچ *Beauveria bassiana*. ستون‌هایی که دارای حروف یکسان هستند اختلاف معنی‌دار با یکدیگر در همان زمان ندارند ($p \leq 0.05$). ۱۰۳
شکل ۳-۲۶- تأثیر مقادیر مختلف اکدیزون (میلی‌گرم/میلی‌لیتر) بر تعداد تشکیل گره (میانگین ± خطای استاندارد) در لارو زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* (A) و لارو پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* (B) آلوده به اسپورهای قارچ *Beauveria bassiana*. ستون‌هایی که دارای حروف یکسان هستند اختلاف معنی‌دار با یکدیگر در همان زمان ندارند ($p \leq 0.05$). ۱۰۷
شکل ۳-۲۷- تأثیر مقادیر مختلف هورمون جوانی (میلی‌گرم/میلی‌لیتر) بر واکنش تشکیل گره (میانگین ± خطای استاندارد) در لارو زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* (A) و لارو پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* (B) آلوده به اسپورهای قارچ *Beauveria bassiana*. ستون‌هایی که دارای حروف یکسان هستند اختلاف معنی‌دار با یکدیگر در همان زمان ندارند ($p \leq 0.05$). ۱۰۸
شکل ۳-۲۸- تأثیر مقادیر مختلف اکدیزون (میلی‌گرم/میلی‌لیتر) بر میزان فعالیت آنزیم فنل اکسیداز (میانگین ± خطای استاندارد) در لارو زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* (A) و لارو پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* (B) آلوده به اسپورهای قارچ *Beauveria bassiana*. ستون‌هایی که دارای حروف یکسان هستند اختلاف معنی‌دار با یکدیگر در همان زمان ندارند ($p \leq 0.05$). ۱۱۱
شکل ۳-۲۹- تأثیر مقادیر مختلف هورمون جوانی (میلی‌گرم/میلی‌لیتر) بر میزان فعالیت آنزیم فنل اکسیداز(میانگین ± خطای استاندارد) در لارو زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* (A) و لارو پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* (B) آلوده به

اسپورهای قارچ *Beauveria bassiana*. ستون‌هایی که دارای حروف یکسان هستند اختلاف معنی‌دار با یکدیگر در همان زمان ندارند ($p \leq 0.05$). ۱۱۲
شکل۳-۳۰- نمای سلول‌های خونی کشت شده لارو زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* مقیاس: ۲۰ میکرومتر ۱۱۵
شکل ۳-۳۱- منحنی رشد سلول‌های خونی کشت شده لارو زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* در محیط کشت Ex-Cell 400 .....۱۱۶
شکل ۳-۳۲- رشد سلول‌های خونی کشت شده در زمان ۱۶۸ ساعت پس از تیمار با غلظت‌های مختلف اکدایزون (میانگین ± خطای استاندارد).....۱۱۷
شکل ۳-۳۳- تأثیر اکدایزون (غلظت ۳ میکروگرم/ میلی‌لیتر) بر سلول‌های خونی کشت شده *Arge rosae* در زمان ۱۶۸ ساعت پس از تیمار ۱۱۷

جدول پیوست ۱- تجزیه واریانس مربوط به تأثیر تیمارها بر تعداد کل سلول‌های خونی در لارو زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* در زمان‌های مختلف پس از تزریق ---------- ۱۳۸
جدول پیوست ۲- تجزیه واریانس مربوط به تأثیر تیمارها بر تعداد کل سلول‌های خونی در لارو پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* در زمان‌های مختلف پس از تزریق ---------- ۱۳۸
جدول پیوست ۳- تجزیه واریانس مربوط به تأثیر تیمارها بر میانگین تعداد پلاسماتوسیت‌ها در لارو زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* در زمان‌های مختلف پس از تزریق ---------- ۱۳۸
جدول پیوست ۴- تجزیه واریانس مربوط به تأثیر تیمارها بر میانگین تعداد گرانولوسیت‌ها در لارو زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* در زمان‌های مختلف پس از تزریق ---------- ۱۳۹
جدول پیوست ۵- تجزیه واریانس مربوط به تأثیر تیمارها بر میانگین تعداد انوسیتوئیدها در لارو زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* در زمان‌های مختلف پس از تزریق ---------- ۱۳۹
جدول پیوست ۶- تجزیه واریانس مربوط به تأثیر تیمارها بر میانگین تعداد پروهموسیت‌ها در لارو زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* در زمان‌های مختلف پس از تزریق ---------- ۱۳۹
جدول پیوست ۷- تجزیه واریانس مربوط به تأثیر تیمارها بر میانگین تعداد پلاسماتوسیت‌ها در لارو پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* در زمان‌های مختلف پس از تزریق ---------- ۱۴۰
جدول پیوست ۸- تجزیه واریانس مربوط به تأثیر تیمارها بر میانگین تعداد گرانولوسیت‌ها در لارو پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* در زمان‌های مختلف پس از تزریق ---------- ۱۴۰
جدول پیوست ۹- تجزیه واریانس مربوط به تأثیر تیمارها بر میانگین تعداد انوسیتوئیدها در لارو پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* در زمان‌های مختلف پس از تزریق ---------- ۱۴۰
جدول پیوست ۱۰- تجزیه واریانس مربوط به تأثیر تیمارها بر میانگین تعداد اسفرولوسیت‌ها در لارو پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* در زمان‌های مختلف پس از تزریق ---------- ۱۴۱
جدول پیوست ۱۱- تجزیه واریانس مربوط به تأثیر تیمارها بر میانگین تعداد پروهموسیت‌ها در لارو پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* در زمان‌های مختلف پس از تزریق ---------- ۱۴۱
جدول پیوست ۱۲- تجزیه واریانس مربوط به تأثیر تیمارها بر میانگین تعداد گره در لارو زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* در زمان‌های مختلف پس از تزریق ---------- ۱۴۱
جدول پیوست ۱۳- تجزیه واریانس مربوط به تأثیر تیمارها بر میانگین تعداد گره در لارو پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* در زمان‌های مختلف پس از تزریق ---------- ۱۴۲
جدول پیوست ۱۴- تجزیه واریانس مربوط به تأثیر تیمارها بر میزان فعالیت آنزیم فنل اکسیداز در لارو زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* در زمان‌های مختلف پس از تزریق ---------- ۱۴۲
جدول پیوست ۱۵- تجزیه واریانس مربوط به تأثیر تیمارها بر میزان فعالیت آنزیم فنل اکسیداز در لارو پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* در زمان‌های مختلف پس از تزریق ---------- ۱۴۲

جدول پیوست ۱۶- تجزیه واریانس مربوط به تأثیر اکدایزون بر تعداد کل سلول‌های خونی در لارو زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* در زمان‌های مختلف پس از تزریق---------- ۱۴۳
جدول پیوست ۱۷- تجزیه واریانس مربوط به تأثیر اکدایزون بر میانگین تعداد کل سلول‌های خونی در لارو پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* در زمان‌های مختلف پس از تزریق ---------- ۱۴۳
جدول پیوست ۱۸- تجزیه واریانس مربوط به تأثیر هورمون جوانی برتعداد کل سلول‌های خونی در لارو زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* در زمان‌های مختلف پس از تزریق ---------- ۱۴۳
جدول پیوست ۱۹- تجزیه واریانس مربوط به تأثیر هورمون جوانی بر میانگین تعداد کل سلول‌های خونی در لارو پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* در زمان‌های مختلف پس از تزریق ---------- ۱۴۴
جدول پیوست ۲۰- تجزیه واریانس مربوط به تأثیر اکدایزون برمیانگین تعداد پلاسماتوسیت‌ها در لارو زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* در زمان‌های مختلف پس از تزریق---------- ۱۴۴
جدول پیوست ۲۱- تجزیه واریانس مربوط به تأثیر اکدایزون برمیانگین تعداد گرانولوسیت‌ها در لارو زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* در زمان‌های مختلف پس از تزریق---------- ۱۴۴
جدول پیوست ۲۲- تجزیه واریانس مربوط به تأثیر اکدایزون بر میانگین تعداد پلاسماتوسیت‌ها در لارو پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* در زمان‌های مختلف پس از تزریق ---------- ۱۴۵
جدول پیوست ۲۳- تجزیه واریانس مربوط به تأثیر اکدایزون بر میانگین تعداد گرانولوسیت‌ها در لارو پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* در زمان‌های مختلف پس از تزریق ---------- ۱۴۵
جدول پیوست ۲۴- تجزیه واریانس مربوط به تأثیر هورمون جوانی برمیانگین تعداد پلاسماتوسیت‌ها در لارو زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* در زمان‌های مختلف پس از تزریق ---------- ۱۴۵
جدول پیوست ۲۵- تجزیه واریانس مربوط به تأثیر هورمون جوانی برمیانگین تعداد گرانولوسیت‌ها در لارو زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* در زمان‌های مختلف پس از تزریق ---------- ۱۴۶
جدول پیوست ۲۶- تجزیه واریانس مربوط به تأثیر هورمون جوانی بر میانگین تعداد پلاسماتوسیت‌ها در لارو پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* در زمان‌های مختلف پس از تزریق ---------- ۱۴۶
جدول پیوست ۲۷- تجزیه واریانس مربوط به تأثیر هورمون جوانی بر میانگین تعداد گرانولوسیت‌ها در لارو پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* در زمان‌های مختلف پس از تزریق---------- ۱۴۶
جدول پیوست ۲۸- تجزیه واریانس مربوط به تأثیر اکدایزون بر میانگین تعداد گره ها در لارو زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* در زمان‌های مختلف پس از تزریق---------- ۱۴۷
جدول پیوست ۲۹- تجزیه واریانس مربوط به تأثیر اکدایزون بر میانگین تعداد گره در لارو پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* در زمان‌های مختلف پس از تزریق ---------- ۱۴۷
جدول پیوست ۳۰- تجزیه واریانس مربوط به تأثیر هورمون جوانی برمیانگین تعداد گره در لارو زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* در زمان‌های مختلف پس از تزریق ---------- ۱۴۷

جدول پیوست ۳۱- تجزیه واریانس مربوط به تأثیر هورمون جوانی بر میانگین تعداد گره ها در لارو پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* در زمان‌های مختلف پس از تزریق ---------- ۱۴۸
جدول پیوست ۳۲- تجزیه واریانس مربوط به تأثیر اکدایزون بر میزان فعالیت آنزیم فنل اکسیداز در لارو زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* در زمان‌های مختلف پس از تزریق ---------- ۱۴۸
جدول پیوست ۳۳- تجزیه واریانس مربوط به تأثیر اکدایزون بر میزان فعالیت آنزیم فنل اکسیداز در لارو پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* در زمان‌های مختلف پس از تزریق ---------- ۱۴۸
جدول پیوست ۳۴- تجزیه واریانس مربوط به تأثیر هورمون جوانی بر میزان فعالیت آنزیم فنل اکسیداز در لارو زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* در زمان‌های مختلف پس از تزریق ---------- ۱۴۹
جدول پیوست ۳۵- تجزیه واریانس مربوط به تأثیر هورمون جوانی بر میزان فعالیت آنزیم فنل اکسیداز در لارو پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* در زمان‌های مختلف پس از تزریق ---------- ۱۴۹

چکیده

پاسخ‌های ایمنی زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* (Hym; Argidae) و پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* (Lep; Pyralidae) به قارچ *Beauveria bassiana*، هورمون جوانی و اکدایزون

رویا خسروی

پژوهش حاضر به منظور شناسایی سلول‌های خونی زنبور برگ‌خوار رز *Arge rosae* Gmel (Hymenoptera: Argidae) و پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae) و چگونگی فعالیت ایمنی این حشرات در برابر قارچ‌های بیمارگر *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin انجام شد. ویژگی‌های شکل‌شناسی سلول‌های خونی زنبور در هردو حشره مورد آزمایش با استفاده از انواع میکروسکوپ‌ها بررسی شد. چهار نوع سلول خونی در همولنف لارو *A. rosae* شناسایی شد: پروهموسیت‌ها، پلاسماتوسیت‌ها، گرانولوسیت‌ها و انوسیتوئیدها. در همولنف لارو *G. pyloalis* پنج نوع سلول خونی شناسایی شد که شامل پروهموسیت‌ها، پلاسماتوسیت‌ها، گرانولوسیت‌ها، انوسیتوئیدها و اسفرولوسیت‌ها بود. همچنین هموگرام مراحل مختلف رشدی لاروها نشان داد که تعداد کل سلول‌های خونی با افزایش سن لاروی به صورت معنی‌داری افزایش پیدا کرد. پلاسماتوسیت‌ها و گرانولوسیت‌ها بیشترین جمعیت را در مقایسه با سایر سلول‌های خونی به خود اختصاص دادند. جهت اثبات بیمارگری قارچ *B. bassiana* روی زنبور برگ‌خوار رز و پروانه برگ‌خوار توت و انتخاب یک جدایه مؤثر، آزمایش‌های زیست‌سنجی با استفاده از چهار جدایه انجام شد. نتایج این بررسی نشان داد که تمام جدایه‌های قارچ مذکور قادر به آلوده کردن لاروهای هر دو حشره مورد آزمایش بودند و درصد مرگ و میر لاروها با افزایش غلظت اسپور قارچ افزایش یافت. نتایج نشان داد که جدایه IRAN 403C در مقایسه با سایر جدایه‌ها، بالاترین میانگین درصد مرگ و میر را در لاروهای هر دو حشره مورد آزمایش ایجاد کرد. تأثیر جدایه IRAN 403C از قارچ *B. bassiana* و گویچه‌های پلی‌استر روی ایمنی سلولی و فعالیت فنل اکسیداز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که پلاسموتوسیت‌ها و گرانولوسیت‌ها در بیگانه‌خواری اسپورهای قارچ شرکت می‌کنند و بیشترین فعالیت بیگانه‌خواری در ۳۰ و ۶۰ دقیقه پس از تزریق عامل بیگانه رخ داد. تعداد کل سلول‌های خونی و همچنین تعداد پلاسماتوسیت‌ها و گرانولوسیت‌ها بعد از تزریق در تیمارها تغییر یافت. واکنش تشکیل گره در زمان‌های مختلف و با توجه به تیمارهای مختلف، متفاوت بود. فعالیت فنل‌اکسیداز نیز در لاروهای تیمار شده هر دو حشره مورد آزمایش تغییر یافت و در زمان ۳، ۶ و ۱۲ ساعت بیشترین فعالیت را نشان داد. استفاده از ترکیبات هورمونی نشان داد که اکدایزون و هورمون جوانی باعث تغییراتی در توانایی ایمنی حشره می شوند. بر خلاف اثر سرکوب‌کننده هورمون جوانی روی واکنش‌های مختلف سامانه ایمنی این حشره، تیمار لاروهای آلوده به اسپورهای قارچ *B. bassiana* با اکدایزون باعث افزایش تعداد کل سلول‌های خونی، جمعیت پلاسماتوسیت‌ها و گرانولوسیت‌ها، واکنش تشکیل گره و میزان فعالیت آنزیم فنل‌اکسیداز در لاروهای *A. rosae* و *G. pyloalis* شد. در میان سلول‌های خونی کشت شده لارو زنبور برگ‌خوار رز سلول‌های کروی حالت غالب را داشتند. سلول‌های خونی کشت شده به اکدایزون و اسپور قارچ *B. bassiana* واکنش نشان دادند. نتایج تحقیق حاضر حاکی از دفاع سلولی لاروهای *A. rosae* و *G. pyloalis* در برابر عوامل زنده و غیر زنده بود و مقدار ترکیبات هورمونی بر توانایی سیستم ایمنی آن‌ها تأثیر می‌گذارد. درک واکنش‌های ایمنی القاء شده و امکان دستکاری آن‌ها می‌تواند در افزایش کارایی عوامل میکروبی علیه حشرات افت مفید باشد.

واژه‌های کلیدی: زیست سنجی، سامانه ایمنی، سلول‌های خونی، قارچ بیمارگر، هورمون

مقدمه

حشرات موفقیت قابل ملاحظه‌ای در تکامل داشته‌اند و نزدیک به ۹۰٪ همه گونه‌های جانوری را تشکیل می‌دهند؛ با توجه به این‌که حشرات در بیشتر زیستگاه‌های خاکی و آب شیرین زندگی و از هر نوع ماده آلی تغذیه می‌کنند، آن‌ها با انواع زیادی از پارازیت‌ها و بیماری‌ها مواجه می‌شوند. گونه‌هایی که در خاک نقب می‌زنند، یا در گل‌ولای اطراف برکه‌ها زندگی می‌کنند، یا روی لاشه‌ها و مواد پوسیده تغذیه می‌کنند، به طور دائم در معرض آلودگی توسط میکروارگانیسم‌ها قرار دارند. همچنین گونه‌هایی که در میان بقایای گیاهی در سطح خاک زندگی می‌کنند، یا روی برگ‌ها و شاخه‌های گیاهان در حال رشد هستند، احتمال آلوده شدن به میکروب‌های هوازاد را دارند و ممکن است توسط انواع زیادی از پارازیت‌ها مورد حمله قرار گیرند [Rolff and Reynolds, 2009].

برای مقابله با این خطرات، حشرات دارای ویژگی‌های خاصی برای جلوگیری از آلودگی هستند. واضح‌ترین مثال اسکلت خارجی آن‌ها است که پوششی غنی از کیتین، پروتئین، واکس و موم می‌باشد. کوتیکول حشرات از نظر فیزیکی زبر، از نظر شیمیایی مقاوم، و به طور معمول غیر قابل نفوذ به آب است. این اسکلت خارجی به عنوان سدی در مقابل بسیاری از عوامل میکروبی عمل می‌کند. مثال دیگر ترکیب مایع گوارشی آن‌ها است که به سرعت بیشتر میکروارگانیسم‌های وارد شده به لوله گوارش همراه با غذا، را نابود می‌کند. این‌گونه ویژگی ساختار و فیزیولوژی حشرات، از آن‌ها در مقابل بسیاری از موجودات مهاجم محافظت می‌کند [Narayanan, 2004].

با جود عوامل دفاعی ذکر شده در بالا، تعداد زیادی از بیمارگرها به داخل بدن حشره وارد می‌شوند. بسیاری از انواع ویروس‌ها، باکتری‌ها، قارچ‌ها، پروتوزآها و حشرات پارازیتوئید قادر به نفوذ به هموسل هستند، که در آنجا از همولنف تغذیه می‌کنند و می‌توانند مسیر دستیابی به اندام‌ها و بافت‌های ویژه را بیابند. پس از ورود عوامل بیمارگر به هموسل، حشرات با استفاده از سامانه ایمنی ذاتی با این آلودگی‌ها مقابله می‌کنند.

سامانه ایمنی ذاتی یکی از مهمترین عوامل در توانایی حشرات برای بقاء در شرایط سخت می‌باشد، که شامل پاسخ‌های سلولی و هومورال است. واکنش‌های دفاع سلولی به طور معمول سریع ولی دفاع هومورال چند ساعت پس از آلودگی رخ می‌دهد. مکانیسم‌های دفاع سلولی شامل بیگانه‌خواری[1]، گره و کپسوله کردن است. در حشرات،گره با تجمع سلول‌های خونی در اطراف باکتری یا اسپور قارچ ایجاد می‌شود. به طور مشابه، کپسوله شدن نیز به تجمع هموسیت در اطراف پاتوژن‌های بزرگتر شبیه پارازیتوئیدها و نماتدها اشاره دارد. اطلاعات در مورد سنتز پپتیدهای ضد میکروبی و مسیر فنل اکسیداز در طی سال‌های

[1]. Phagocytosis

اخیر افزایش یافته است، اما پاسخ‌های سلولی مانند بیگانه‌خواری و گره به خوبی درک نشده‌اند [Narayanan, 2004]. دفاع هومورال با فعالیت سیستم پیش‌فنل اکسیداز[1]، پروتئین‌های ضد باکتریایی و واسطه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن صورت می‌گیرد. به‌طور عمده نقش اجسام چربی و سلول‌های خونی در دفاع هومورال به لحاظ منابع تولید فنل اکسیداز و پپتیدهای ضد میکروبی مهم است. پیش‌فنل اکسیداز به آلودگی‌های قارچی و موجودات پر سلولی واکنش نشان می‌دهد اما لیزوزیم[2] به‌طور معمول به آلودگی باکتریایی مربوط می‌شود. لیزوزیم‌ها، سکروپین‌ها[3] و دیگر پروتئین‌ها سبب متلاشی شدن دیواره‌ی سلولی باکتری و تجزیه و رسوب غشای آن می‌شوند [Freitak et al., 2007]. واکنش‌های دفاعی سلولی، موضوع این مطالعه، علیه همه انواع پارازیت‌ها و ارگانیسم‌های عامل بیماری و در حقیقت علیه همه اجسام خارجی در هموسل بدن حشره عمل می‌کنند. این واکنش‌ها تنها از چند نوع شکل پایه استفاده می‌کنند و نوع واکنشی که باید در هر مورد خاص اعمال شود بستگی به اندازه جسم خارجی محرک واکنش ایمنی دارد[Rolff and Reynolds, 2009].

خسارت وارد شده به گیاهان توسط حشرات آفت می‌تواند با استفاده از عوامل میکروبی کنترل بیولوژیک کاهش یابد. اما اثرات مفید عوامل کنترل بیولوژیک گاهی اوقات توسط واکنش‌های ایمنی حشره میزبان جهت حفاظت از خود کاهش می‌یابد. درک بهتری از این واکنش‌ها، که در این تحقیق به آن پرداخته می‌شود، ممکن است منجر به یافتن روش‌هایی جهت دستکاری آن‌ها به نفع بشر شود. چنانچه حشره توانایی کافی برای انهدام عامل بیگانه را نداشته باشد از پای درآمده و در نبرد بین حشره-عامل بیگانه، عامل بیگانه موفق خواهد شد. برخی از عوامل هورمونی پاسخ ایمنی حشرات به بیمارگرها را تحت تأثیر قرار می دهند. محققین مختلف تأثیر مستقیم و غیرمستقیم هورمون‌های حشرات را روی وضعیت سیستم ایمنی آن‌ها مورد بررسی قرار داده‌اند [Adamo, 2006; Beckage, 2008]. هورمون جوانی[4] و اکدایزون[5] از جمله ترکیبات هورمونی مهم در فیزیولوژی حشرات به شمار می‌آیند. شواهدی وجود دارد که این هورمون‌ها باعث تعدیل واکنش‌های ایمنی حشرات می‌شوند [Franssens et al., 2006]. به دلیل وجود اطلاعات کم در ارتباط با نقش هورمون پوست‌اندازی و هورمون جوانی و آنالوگ‌های آن‌ها در سیستم ایمنی حشرات، عملکرد این عوامل در واکنش‌های ایمونولوژیک مورد توجه محققین مختلف قرار گرفته است.

1. Prophenoloxidase
2. Lysozyme
3. Cecropines
4. Juvenile Hormone
5. 20-hydroxyecdysone (20E)