Iranian Journal of Plant Protection Science
Vol 53, No 2, Autumn and Winter 2022 (145-161)
DOI: 10.22059/IJPPS.2022.340689.1007003

دانش گیاهپزشکی ایران
دورۀ ۵۳، شمارۀ ۲، پاییز و زمستان ۱۴۰۱ (ص۱۶۱-۱۴۵) مقاله پژوهشی

تأثیر کودهای ریزمغذی بر برخی از عملکردهای فیزیولوژیک لاروهای بالغ کفشدوزک *Hippodamia variegata*

طیبه علی‌زمانی*[۱]، جهانشیر شاکرمی[۲]، مژگان مردانی- طلایی[۳]، آرش زیبایی[۴]
۱،۲- دانشجوی سابق دکتری و استاد گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه لرستان، لرستان، ایران.
۳- دانشجوی سابق دکتری گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۴- دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، گیلان، ایران.
(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۲۸- تاریخ پذیرش:۱۴۰۱/۰۷/۱۲)

چکیده

یکی از آفات مهم فلفل دلمه ای، شته سبز هلو، Myzus persicae (Sulzer)، است. یکی از شکارگرهای مهم شته سبز هلو در مراحل لاروی و حشره کامل، کفشدوزک Hippodamia variegata (Goeze) است. در مطالعه حاضر، تأثیر محلول پاشی ریز مغذی های آلفا آهن، بیومین های روی، مس و منگنز بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان، میزان اجسام ذخیره ای (پروتئین، گلیکوژن و تری گلیسرید) و عوامل غیرآنزیمی آنتی اکسیدان لاروهای سن سوم و چهارم H. variegata تغذیه شده با M. persicae روی فلفل دلمه بررسی شد. نتایج نشان داد بیشترین میزان پروتئین، گلیکوژن و تری گلیسرید به ترتیب در لاروهای سن سوم و چهارم شکارگر روی تیمارهای ریزمغذی نسبت به شاهد به دست آمد. همچنین فعالیت آنزیم های آنتی-اکسیدان (کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و گلوگز- ۶ فسفات دهیدروژناز) و مقادیر ترکیبات غیر آنزیمی (مالون دی‌آلدهید و تیول) لاروهای سنین سوم و چهارم شکارگر به طور معنی داری در تغذیه از شته های پرورش یافته روی تیمارهای ریز مغذی در مقایسه با شاهد کاهش یافت. افزایش فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز در تیمار شاهد می تواند نشان-دهنده بروز استرس اکسیداتیو در بدن شکارگر به دلیل تجمع پراکسید هیدروژن در بدن شته تحت تأثیر متابولیت های ثانویه باشد که منجر به افزایش فعالیت کاتالاز و پراکسیداز شده است. بنابراین، استفاده از عوامل کنترل بیولوژیک همراه با کود های ریز مغذی مختلف سبب افزایش میزان اجسام ذخیره ای و کاهش شرایط اکسیداتیو شد که می تواند بر فرآیندهای حیاتی شکارگر در قالب برنامه های مدیریت تلفیقی M. persicae موثر باشد.

واژه‌های کلیدی: فلفل‌دلمه، شته سبز هلو، ***Hippodamia variegata***، سامانه آنتی‌اکسیدان، اجسام ذخیره‌ای

The Effect of micronutrient fertilizations on some of physiological functions of mature larvae of *Hippodamia variegata* (Goeze) fed on M*yzus persicae* (Sulzer)

Tayebeh Alizamani[1*], Jahanshir Shakarami[2], Mozhgan Mardani- Talaee[3], Arash Zibaee[4]
1, 2. Former Ph.D. student and Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Lorestan University, Lorestan, Iran.
3. Former Ph. D. Student, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
4. Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Guilan-Rasht, Iran.
This article is part of the results of the first author's P.h. D. thesis which was conducted during 2020-2021 in the greenhouse and laboratory the Department of Plant Protection, College of Agriculture, Lorestan University.
(Received: Mar, 19, 2022 - Accepted: Oct, 04, 2022)

ABSTRACT

The green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer) is one of the severe pests of *Capsicum annuum* L. Variegated lady beetle, *Hippodamia variegata* (Goeze), is an important predator in both the larval and adult stages. In the present study, the effect of foliar application of micronutrient fertilizers included iron, zinc, copper and manganese were investigated on the activity of antioxidant enzymes, amount of antioxidant non-enzymatic compounds and storage-macromolecules (protein, glycogen and triglyceride) of the third and fourth instar larvae of *H. variegata* fed on *M. persicae*. Results showed that the higher amount of protein, glycogen and triglyceride of the third and the fourth instar larvae of *H. variegata* were obtained on micronutrient fertilizers. Also, the activity of antioxidant enzymes (catalase, superoxide dismutase, peroxidase, ascorbate-peroxidase and glucose-6-phosphate dehydrogenase) and the amount of non-enzymatic compounds (malondialdehyde and thiol) significantly decerased in the third and the fourth instar larvae of *H. variegata* on the micronutrient treatments compared to the control. The increase of superoxide dismutase activity can indicate the occurrence of oxidative stress in the body of the third and the fourth instar larvae of predator *H. variegata* could be assigned to the accumulation of H_2O_2 in the body of *M. persicae* under the influence of the defensive secondary metabolites, which led to increase the activity of catalase and peroxidase. Thus, the use of biological control agents along to the use of micronutrients fertilizers in the integrated management programs of *M. persicae* could be effective by increasing of the amount of storage macromolecules and decreasing oxidative conditions, which can affect the vital processes of the predator.

Keywords: Bell pepper,Green peach aphid,*Hippodamia variegata*, Antioxidant, Storage macromolecules.

* Corresponding author E-mail: alizamanitaiebeh@yahoo.com

مقدمه

در ایران گیاهان تیره بادمجانیان[1] با توجه به نقش قابل توجه آن‌ها در اقتصاد کشور، در سطح وسیعی در مزارع و گلخانه‌ها کشت می‌شوند. فلفل‌دلمه، با نام علمی *Capsicum annuum* L.، گیاهی یک ساله از تیره‌ی بادمجانیان، با خواص دارویی بسیار ارزشمند بوده و کشت آن توسط عوامل مختلف، مورد خسارت جدی واقع می‌شود (Chavez Mendoza, 2015). شته سبز هلو، *Myzus persicae* (Sulzer)، یکی از آفات مهم گیاهان تیره بادمجانیان و از جمله فلفل‌دلمه است که با تغذیه از شیره گیاهی و انتقال بیماری‌های مهم ویروسی باعث خسارت می‌شود (Capinera, 2001). متداول‌ترین روش کنترل شته سبز هلو، استفاده از حشره‌کش‌های شیمیایی است که با تأثیر سوء بر سلامت تولیدکننده‌ها، مصرف‌کننده‌ها و محیط زیست همراه است؛ بنابراین، تلاش‌ها باید در جهت یافتن راهکارهای مدیریتی سازگار با محیط زیست و کاهش مصرف سموم شیمیایی انجام گیرد. یکی از روش‌های سازگار با محیط زیست و از اجزای مهم مدیریت تلفیقی آفات، استفاده از عوامل کنترل بیولوژیک با هدف کاهش جمعیت آفات می‌باشد (Omkar and Srivastava, 2000). با توجه به سازگاری این روش با دیگر روش‌های کنترل آفات و خطر کمتر نسبت به استفاده از سموم شیمیایی، می‌تواند نقش و اهمیت قابل توجهی در مدیریت تلفیقی آفات داشته باشد (Omkar and Srivastava, 2000). کفشدوزک‌ها یکی از مهم‌ترین عوامل کنترل بیولوژیک مفید گونه‌های مختلف شته‌ها در اکوسیستم‌های زراعی و باغی سراسر جهان هستند. کفشدوزک شکارگر *Hippodamia variegata* (Goeze)، گونه‌ای چندین‌خوار با پراکنش گسترده جهانی می‌باشد (Obrycki and Orr, 1990). این گونه به علت قدرت جستجوگری و تراکم جمعیت بالا، همچنین توانایی تولیدمثلی و نرخ بالای مصرف شکار، یکی از مهم‌ترین عوامل کنترل بیولوژیک شته‌ها در گلخانه‌ها است که نقش قابل توجهی را در تعادل و کنترل طبیعی آفات ایفا می‌کند (Khan and Mir, 2008). از سوی دیگر، یکی از روش‌های مدیریتی جدید در کشورهای پیشرفته و در حال توسعه استفاده از کودهای ریزمغذی و مصرف بهینه عناصر غذایی مورد نیاز گیاه می‌باشد که سبب امنیت غذایی، بهبود رشد و عملکرد محصول می‌شوند. در میان عناصر غذایی جدا از کربن، هیدروژن و اکسیژن، ۱۴ عنصر ضروری برای رشدونمو مطلوب گیاهان شناخته شده که شامل عناصر غذایی اولیه (نیتروژن، فسفر و پتاسیم)، عناصر غذایی ثانویه (کلسیم، منیزیم و گوگرد) و ریزمغذی‌ها (آهن، روی، مس، منگنز، بر، مولیبدن، کلر و نیکل) می‌باشند (Hansch and Mendel, 2009). نیاز گیاهان به عناصر میکرو (ریزمغذی)، بسیار ناچیز اما برای رشد و عملکرد مناسب گیاهان ضروری بوده و به همین علت آن‌ها را عناصر کم مصرف و یا ریزمغذی می‌نامند؛ کمبود هر یک از این عناصر می‌تواند باعث آسیب‌های جبران-ناپذیر به گیاهان شود. عناصر ریز مغذی آهن، روی، مس و منگنز از عناصر و اجزای اصلی در ساختار آنزیم‌ها و پروتئین‌های گیاهان می‌باشند که بر فرآیند-های سلولی گیاه تأثیر قابل توجهی دارند (Hansch and Mendel, 2009; Fallahpour *et al*., 2015). بررسی‌ها نشان می‌دهد که استفاده از کودها از جمله کودهای ریزمغذی سبب بهبود کیفیت رشد رویشی و تغییر سطح مواد غذایی بافت گیاه می‌شود و در سطوح تغذیه‌ای بالاتر به ترتیب دارای اثرات منفی و مثبت بر تغذیه، زنده‌مانی، باروری و امید به زندگی آفات مکنده و دشمنان طبیعی می‌باشند (Mottaghinia *et al*., 2015; Mardani-Talaee *et al*., 2016; Alizamani *et al*., 2020; Pourya *et al*., 2021; Mirab-balou and Alizamani, 2022). تأثیر کوددهی عناصر ریزمغذی در گیاه فلفل دلمه، بر رشد جمعیت پشه شته‌خوار، *Aphidoletes aphidimyza* Rondani، با تغذیه از شته سبز هلو نشان می‌دهد که محلول‌پاشی این عناصر با بهبود کیفیت رشد، افزایش میزان ترکیبات ثانویه دفاعی گیاهان و تأثیر منفی بر ویژگی‌های اکولوژی و فیزیولوژی گیاه‌خواران، تأثیر مثبتی بر عملکرد سطح غذایی بالاتر یعنی دشمنان طبیعی ایجاد می‌کنند (Mirab-balou and Alizamani, 2022).

1. Solanaceae

سیستم‌های زیستی تحت تأثیر تنش اکسیداتیو به وسیله‌ی گونه‌های فعال اکسیژن[۲]، مانند تولید رادیکال‌های آنیون‌سوپراکسید، هیدروکسیل و پراکسیدهای هیدروژن که فرآیندهای اکسیداتیو طبیعی در سلول‌ها و مایعات خارج سلول هستند، قرار می‌گیرند (Jena *et al*., 2013). این ترکیبات به دلیل اثرات مخرب باید توسط سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی موجودات زنده خنثی شوند. سیستم دفاع آنتی-اکسیدان، مکانیسم بیوشیمیایی محافظت‌کننده و متشکل از اجزای آنزیمی و غیرآنزیمی است که ارگانیسم‌ها را از اثرات مخرب گونه‌های فعال اکسیژن و محصولات جانبی متابولیسم حفظ می‌کند (Chainy *et al*., 2016). از سوی دیگر، موجودات زنده قادر به اصلاح عوامل فیزیکی محیط مانند دوره نوری، دما، شوری، رطوبت، میزان اکسیژن و در دسترس بودن غذا به میزان نیاز خود نیستند. بنابراین، آن‌ها راهکارهایی برای تعدیل مسیرهای متابولیکی متناسب با فیزیولوژی خود با تغییر چالش‌های زیست‌محیطی برای زنده‌مانی تکامل داده‌اند. در بررسی انجام شده توسط Francis *et al*. (2006) مشخص شد که ماهیت و ترکیبات شیمیایی گیاهان میزبان نه تنها بر گیاه-خواران بلکه بر شکارگرهای آفات نیز تأثیر می‌گذارد. در این راستا، Alizamani *et al*., (2021a) نشان دادند کوددهی گیاه فلفل دلمه با عناصر ریزمغذی سبب افزایش ترکیبات ثانویه دفاعی گیاه بویژه فنول کل و فلاونوئید شد که با افزایش سطح این ترکیبات بافت گیاهی برای تغذیه آفت نامساعد می‌شود. از سوی دیگر، با تغییر در فعالیت آنزیم‌های سیستم دفاع آنتی-اکسیدان گیاه با تولید رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن منجر به ایجاد تنش شیمیایی، کاهش پراسنجه‌های جدول زندگی و اختلال در فعالیت‌های فیزیولوژی شته سبز هلو شده است (Alizamani *et al*., 2020; Alizamani *et al*., 2021b). حشرات همیشه نیازمند مصرف انرژی هستند و در صورت عدم تغذیه از ذخایر انرژی استفاده می‌کنند (Nation, 2008). از جمله ذخایر انرژی در بدن جانوران پروتئین، گلیکوژن و تری‌گلیسیرید است.گلیکوژن فرم پلیمریزه گلوکز است که به هنگام نیاز بدن به سرعت به سوخت گلیکولیتیک تبدیل می‌شود (Steele, 1982). اسیدهای چرب به شکل تری‌گلیسیرید ذخیره می‌شوند و برای تولید انرژی از طریق چرخه‌ی بتا اکسیداسیون مورد استفاده قرار می‌گیرند. درشت-ملکول‌های ذخیره‌ای در اجسام چربی نقش بسیار مهمی در تأمین انرژی حشرات در طی دیاپوز، نشوونما جنین و پروازهای طولانی دارند (Hahn and Denlinger, 2007). پروتئین نیز ماده‌ی ذخیره‌ای مهمی در حشرات است که هنگام نیاز، به اسیدهای آمینه تجزیه می‌شود. بلوک‌های پروتئینی حاصل از اسیدهای آمینه می‌توانند پروتئین‌های ساختاری جلد، هورمون‌ها و آنزیم‌های مختلف را تشکیل دهند (Nation, 2008). در بررسی اثر لکتین استخراج شده از *Polygonom persicaria* (PPA) بر میزان اجسام ذخیره‌ای لاروهای *Helicoverpa armigera* (Hübner) گزارش شده است که میزان اجسام ذخیره‌ای پروتئین و گلیکوژن لاروها به علت کاهش مواد غذایی موجود برای ذخیره‌سازی کاهش یافته است (Rahimi *et al*., 2017). بنابراین، با توجه به این که تاکنون مطالعه‌ای در ارتباط با تأثیر عناصر ریزمغذی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، میزان ترکیبات غیر آنزیمی آنتی-اکسیدان و اجسام ذخیره‌ای کفشدوزک *H. variegata* صورت نگرفته است، هدف از مطالعه‌ی حاضر، بررسی برخی از عملکردهای فیزیولوژیکی از قبیل پاسخ‌های سامانه آنتی‌اکسیدانی و میزان اجسام ذخیره‌ای لاروهای سنین سوم و چهارم کفشدوزک *H. variegata* تغذیه شده با *M. persicae* پرورش‌یافته روی تیمارهای مختلف ریزمغذی در مقایسه با شاهد از طریق تغییرات احتمالی در برهم‌کنش‌های سه‌گانه است.

مواد و روش‌ها

تهیه بذر و پرورش گیاهان میزبان

در این پژوهش که درآزمایشگاه و گلخانه تحقیقاتی گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان

1. Reactive oxygen species

طی سالهای ۱۳۹۸ تا ۱۳۹۹ انجام شد، بذر فلفل دلمه‌ای رقم کالیفرنیا واندر[3] از شرکت گلپاد سپاهان شهر استان اصفهان تهیه و استفاده شد. هر بذر در داخل گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه‌ی ۱۵ و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر، حاوی خاک و ماسه به نسبت ۲ به ۱ در گلخانه تحت شرایط دمای ۵±۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۶۰ درصد و دوره نوری طبیعی کاشته شد. آبیاری گیاهان در فواصل زمانی معین براساس نیاز آبی آن‌ها (هر ۲ تا ۳ روز یک بار) انجام شد.

تهیه تیمارهای مورد مطالعه

آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار و چهار تکرار در هر تیمار در آزمایشگاه و گلخانه تحقیقاتی گروه گیاهپزشکی دانشگاه لرستان طی سال‌های ۱۳۹۸ تا ۱۳۹۹ انجام شد. کودهای ریز مغذی مورد استفاده در این مطالعه شامل آهن (آلفا-آهن) از شرکت مزرعه فراز آسمان استان تهران تهیه شد و کودهای بیومین منگنز، مس و روی از شرکت بازرگان کالا تهران تهیه شد. تیمارهای مورد مطالعه در این پژوهش شامل محلول‌پاشی گیاهان در مرحله‌ی رشدی شش تا هشت برگی است که عبارتند از؛

(۱) بیومین منگنز ۵ درصد به میزان یک میلی‌لیتر در یک لیتر آب

(۲) بیومین مس ۴ درصد به میزان یک میلی‌لیتر در یک لیتر آب

(۳) بیومین روی ۷ درصد به میزان یک میلی‌لیتر در یک لیتر آب

(۴) آلفا آهن (۱۳ درصد) به میزان ۱/۷ گرم در یک لیتر آب

(۵) گیاه فلفل دلمه‌ای پرورش‌یافته در خاک زراعی معمولی (بدون کوددهی) به عنوان تیمار شاهد

پرورش حشرات

جمعیت اولیه شته سبز هلو از کلنی آزمایشگاهی دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل تهیه شد. سپس شته-های جمع‌آوری شده با استفاده از قلم موی نازک روی بوته‌های فلفل رقم کالیفرنیا واندر انتقال‌یافته و در شرایط گلخانه‌ای پرورش داده شدند. جهت حفظ کلنی و جلوگیری از پارازیته و شکارشدن شته‌ها، گیاهان حاوی کلنی شته با استفاده از قفس‌های ساخته شده از چوب و توری پارچه‌ای محصور شدند. هر دو هفته یک بار به منظور حفظ کلنی گیاهان به شدت آلوده به آفت برای جلوگیری از آلودگی‌های میکروبی و رشد قارچ‌های دوده با گیاهان سالم جایگزین می‌شدند. به منظور خالص‌سازی جمعیت شته قبل از شروع آزمایش، چهار نسل روی گیاهان مذکور پرورش یافت.

جمعیت اولیه کفشدوزک *H. variegata* از مزارع یونجه استان ایلام تهیه شد. سپس برای پرورش کلنی، کفشدوزک‌های مربوطه را به صورت جفت‌های نر و ماده در داخل ظروف پتری به قطر ۹ و عمق یک سانتی‌متر با کاغذ صافی مرطوب در عمق آن با هم نگه‌داری شدند. برای ایجاد سیستم تهویه و جلوگیری از افزایش رطوبت درپوش پتری‌ها را به اندازه سه سانتی‌متر سوراخ کرده و با توری ریز پوشانده شد. ظروف پرورش حشرات کامل و برگ‌های خشکیده به منظور جلوگیری از ایجاد آلودگی‌های میکروبی روزانه تعویض شدند (Omkar James, 2004) و کفشدوزک‌ها در ظروف جدید قرار داده شدند. تغذیه‌ی کفشدوزک‌ها به صورت روزانه با جمعیت‌هایی از شته سبز هلو انجام شده و برای تامین رطوبت داخل ظروف پتری از یک گلوله پنبه مرطوب استفاده شد. روزانه تخم‌های گذاشته شده به وسیله هر جفت از محیط پرورش و برگ گیاهان میزبان با استفاده از قلم موی نازک جدا کرده و به ظروف پتری دیگر برای تفریخ و پرورش کلنی کفشدوزک انتقال داده شدند. پس از تفریخ تخم‌ها برای تغذیه‌ی لاروها، برگ‌های آلوده به شته به پتری‌ها اضافه شد. پتری‌های حاوی لارو روزانه بازدید و مقداری گیاه آلوده به شته در اختیار آن‌ها قرار گرفت. قبل از انجام آزمایش‌های سنجش آنزیمی و به منظور به دست آوردن تعداد کافی از نمونه‌های آنزیمی هر یک از لاروهای سن سوم و چهارم، کفشدوزک *H. variegata* را در تیمارهای مورد نظر در

2. California Wonder

داخل ظروف پتری محتوی برگ آلوده به ۶۰ شته سبز هلو بالغ به صورت مجزا پرورش داده و در هر تکرار از ۲۰ لارو سن سوم و چهارم این نسل پرورش‌یافته روی تیمارهای ریزمغذی برای انجام آزمایش و به دست آوردن منبع آنزیمی مورد استفاده قرار گرفت.

آماده‌سازی نمونه‌ها

آماده‌سازی نمونه‌ها به منظور بررسی تأثیر کودهای ریزمغذی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و میزان ترکیبات غیرآنزیمی آنتی‌اکسیدان و اجسام ذخیره‌ای بر طبق روش Ferreira and Terra (1983) صورت گرفت. برای این منظور ابتدا ۲۰ لارو از سنین سوم و چهارم کفشدوزک *H. variegata* به صورت تصادفی از هر تیمار و تکرار مورد نظر جمع‌آوری و در آب مقطر هموژنایز شد. سپس با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار نمونه‌های هموژنایز شده با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و محلول رونشین حاصل از آن به عنوان منبع آنزیمی برای سنجش فعالیت‌های آنزیمی مورد استفاده قرار گرفت.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

کاتالاز

فعالیت آنزیم کاتالاز بر طبق روش توصیف شده توسط Wang *et al.* (2001) اندازه‌گیری شد. برای این منظور ۵۰ میکرولیتر از نمونه آنزیمی به ۵۰۰ میکرولیتر از زیرنهشت پراکسید هیدروژن یک درصد اضافه شده و پس از ۱۰ دقیقه انکوبه‌شدن در دمای ۲۸ درجه سلسیوس کاهش جذب مخلوط واکنش در ۲۴۰ نانو-متر اندازه‌گیری شد.

سوپراکسیددیسموتاز

اندازه‌گیری فعالیت سوپراکسیددیسموتاز بر اساس روش توصیف شده به وسیله‌ی Mccord and Fridovich (1969) انجام گرفت. برای این منظور، ۸۰ میکرولیتر نمونه‌ی آنزیمی به ۵۰۰ میکرولیتر مخلوط واکنش (۷۰ میکرولیتر NBT[4] و ۱۲۵ میکرولیتر زانتین که هر دو در بافر فسفات حل شده‌اند) و ۲۰ میکرولیتر محلول زانتین‌اکسیداز (۱۰ میلی‌گرم آلبومین گاوی و ۱۰۰ میکرولیتر زانتین‌اکسیداز که در ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات حل شده است) اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در تاریکی و در دمای ۲۸ درجه سلسیوس نگهداری شد و جذب مخلوط واکنش در طول موج ۵۶۰ نانومتر قرائت شد.

آسکوربات پراکسیداز

اندازه‌گیری فعالیت آسکوربات پراکسیداز براساس روش ارائه شده به وسیله‌ی Asada (1984) انجام شد. مخلوط واکنش شامل ۷۵۰ میکرولیتر نمونه و ۲۵۰ میکرولیتر بافر فسفات ۶۷ میلی‌مولار (اسیدیته ۷) حاوی آسکوربیک اسید ۲/۵ میلی‌مولار و ۲۰۰ میکرو-لیتر H_2O_2 یک درصد بود. سپس با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۹۰ نانومتر کاهش جذب در پنج دقیقه خوانده شد. از نمونه‌های نگهداری شده در آب جوش به عنوان شاهد استفاده شد.

پراکسیداز

سنجش فعالیت پراکسیداز براساس روش Addy and Goodman (1972) انجام شد. بدین‌ترتیب که ۵۰۰ میکرولیتر از بافر پیروگالول (۰/۰۵ مولار پیروگالول در ۰/۱ مولار بافر فسفات با اسیدیته‌ی ۷) و ۵۰۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن یک درصد در ۱۰۰ میکرولیتر نمونه اضافه شد. پس از آن هر ۳۰ ثانیه به مدت دو دقیقه جذب مخلوط واکنش در طول موج ۴۳۰ نانومتر بررسی شد.

گلوکز- ۶- فسفات دهیدروژناز

فعالیت آنزیم گلوکز- ۶- فسفات دهیدروژناز طبق روش Balinsky and Bernstein (1963) اندازه‌گیری شد. محلول حاوی ۱۵۰ میکرولیتر بافر تریس-هیدروکلرید ۰/۱ مولار (اسیدیته ۸/۲)، NADP ۰/۲ میلی‌مولار و $MgCl_2$ ۰/۱ مولار همراه با ۱۰۰ میکرو-

4. Nitro Blue Tetrazolium

لیتر آب و نمونه آنزیمی در داخل کووت ریخته شد. سپس واکنش با اضافه کردن ۵۰ میکرولیتر گلوکز-۶- فسفات آغاز شده و پس از ۱۰ دقیقه انکوبه‌شدن در دمای ۳۷ درجه سلسیوس، جذب در طول موج ۳۴۰ نانومتر بررسی شد.

اندازه‌گیری فعالیت ترکیبات غیرآنزیمی آنتی-اکسیدان

مالون دی‌آلدهید

اندازه‌گیری غلظت مالون دی‌آلدهید که فرآورده‌ی انتهایی فرآیند پراکسیداسیون لیپید می‌باشد، با استفاده از روش اندازه‌گیری اسید تری باربتوریک با کمی تغییرات انجام شد (Bar-Or *et al*., 2001). بدین ترتیب که مقدار ۲۵۰ میکرولیتر تری کلرواستیک اسید ۲۰ درصد با ۵۰ میکرولیتر از نمونه مخلوط شده و مخلوط واکنش در ۱۵۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه و در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد. سپس حجم مساوی (در همه تیمارها) از محلول رونشین حاصل از سانتریفیوژ را به ۲۵۰ میکرولیتر محلول اسید تری‌باربتوریک اضافه کرده و به مدت یک ساعت در بن ماری با دمای ۸۰ درجه سلسیوس قرار داده شد و در نهایت جذب آن در طول موج ۵۳۵ نانومتر خوانده شد. غلظت مالون‌دی‌آلدهید شامل نانومول‌های مالون‌دی‌آلدهید تولید شده به ازای هر میلی‌گرم پروتئین است.

نسبت تیول

از روش اکسیداسیون RSH[5] به وسیله‌ی DTNB[6] ارائه شده به وسیله‌ی Khramtsov *et al*. (1997) برای تعیین غلظت تیول‌های اکسید شده (RSSR)[7] و احیا شده (RSH)، استفاده شد. ۵۰ میکرولیتر از نمونه با ۵۰۰ میکرولیتر از محلول ۰/۱ درصد DTNB در بافر فسفات با غلظت ۲۰ میلی‌مولار مخلوط شد. سپس مخلوط واکنش به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه‌ی سلسیوس انکوبه شد و جذب مخلوط واکنش در طول موج ۴۱۲ نانومتر اندازه‌گیری شد. غلظت RSSR از طریق اختلاف بین غلظت نهایی تیول‌های احیا شده پس از احیا به وسیله‌ی هیدروکلریک‌اسید (RSH+RSSR) و غلظت نهایی RSH در نمونه محاسبه شد. نتایج حاصل به عنوان نسبت RSSR به RSH در نظر گرفته شد.

اندازه‌گیری اجسام ذخیره‌ای

پروتئین

سنجش پروتئین بر طبق روش Lowry *et al*. (1951) و با استفاده از کیت آزمایشی شرکت پارس کیا تجهیز (شیراز، ایران) انجام شد. بدین ترتیب که مقدار ۲۰ میکرولیتر از نمونه آنزیمی را با ۱۰۰۰ میکرولیتر از محلول مخلوط شده ۱ و ۲ (به نسبت ۴ به ۱) به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه‌ی سلسیوس انکوبه شده و مقدار جذب آن درطول موج ۵۴۵ نانومتر خوانده شد.

تری گلیسرید

برای اندازه‌گیری میزان تری گلیسرید از روش Fossati and Prencipe (1982) استفاده شد بدین ترتیب که ۱۰ میکرولیتر از نمونه آنزیمی را با ۱۰۰۰ میکرولیتر معرف مخلوط نموده و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه کرده و سپس جذب واکنش در طول موج ۵۴۵ نانومتر خوانده شد.

گلیکوژن

سنجش فعالیت گلیکوژن طبق روش Chun and Yin (1998) اندازه‌گیری شد. بدین ترتیب که به نمونه داخل میکروتیوب ۵۰۰ میکرولیتر پتاسیم هیدروکسید و سدیم سولفات ۳۰ درصد (KOH w/Na_2SO_4) اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در بن‌ماری جوشانده شد. سپس ورتکس نمونه‌ها روی یخ انجام شد. بعد از آن ۲۰۰ میکرولیتر اتانول ۹۵ درصد به نمونه‌ها اضافه شده و ورتکس روی یخ انجام شد. بعد از ۳۰ دقیقه انکوبه شدن، نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. روشناور حاصل از

5. Reduced thiol
6. Di thio nitro benzoic acid
7. Oxidized thiol

سانتریفیوژ در هر میکروتیوب، حذف و پس از خشک شدن سطح ته نشین شده حاصل ازسانتریفیوژ، با اضافه کردن ۵۰۰ میکرولیتر آب مقطر به هر نمونه، ورتکس انجام شد. سپس به هر یک از نمونه‌ها ۱۰۰ میکرولیتر فنول ۵ درصد اضافه شد و ۵۰ میکرولیتر از نمونه با ۹۵۰ میکرولیتر آب مقطر حل شده و به مدت تعیین شده (۳۰ دقیقه) روی ظرف یخ انکوبه شد و میزان جذب در طول موج ۴۹۲ نانومتر خوانده شد. غلظت‌های گلیکوژن استفاده شده برای سنجش منحنی استاندارد گلیکوژن، ۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میکروگرم گلیکوژن بر میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آب مقطر بود.

تجزیه داده‌ها

قبل از تجزیه داده‌ها، آزمون نرمال بودن داده‌ها از طریق آزمون کلموگروف- اسمیرونوف[8] بررسی شد. نتایج حاصل از تأثیر تیمارهای ریزمغذی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، میزان ترکیبات غیر آنزیمی آنتی‌اکسیدان و اجسام ذخیره‌ای دشمن طبیعی با استفاده از روش تجزیه واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) در نرم‌افزار آماری MINITAB نسخه ۱۶ بررسی شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

فعالیت آنزیم‌ها و میزان ترکیبات غیر آنزیمی آنتی اکسیدان لاروهای سن سوم کفشدوزک شکارگر *H. variegata*

تأثیر تیمارهای ریزمغذی بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان لاروهای سن سوم کفشدوزک *H. variegata* در جدول ۱ ارائه شده است. براساس نتایج، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شامل سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و آسکوربات‌پراکسیداز، و همچنین میزان ترکیبات غیر آنزیمی آنتی‌اکسیدان از جمله تیول وگلوگز ۶ فسفات دهیدروژناز لاروهای سن سوم کفشدوزک *H. variegata* در تغذیه از شته‌های پرورش‌یافته روی گیاهان تیمار شده با کودهای ریزمغذی در مقایسه با شاهد کاهش یافت. آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که مانع اکسیداسیون می‌شوند و از تولید رادیکال‌های آزاد که منجر به ایجاد واکنش‌های زنجیره‌ای و آسیب به سلول‌های موجودات زنده می‌شوند جلوگیری می‌کند. سامانهٔ آنتی‌اکسیدانی متشکل از عوامل آنزیمی و عوامل غیر آنزیمی است که برای محافظت از سلول‌های جانوران در برابر گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، مهار واکنش‌های زنجیره‌ای پراکسیداسیون لیپید و کاهش آسیب پروتئین و DNA به کار گرفته می‌شوند (Dubovskiy *et al*., 2008). کم‌ترین میزان فعالیت سوپر اکسیددیسموتاز که رادیکال‌های سوپراکسید را به پراکسیدهیدروژن و آب تبدیل می‌کند (Lyakhovich *et al*., 2006)، در لاروهای پرورش‌یافته به ترتیب در تیمارهای آلفا آهن، بیومین روی و مس (۰/۱۰۳، ۰/۰۹۰ و ۰/۰۸۴ واحد بر میلی‌گرم در پروتئین) یافت شد ($F=$ ۶۲/۵۶; df= ۴, ۱۵; $P<$۰/۰۵). در حالیکه، بیش‌ترین فعالیت این آنزیم در لاروهای سن سوم تغذیه شده از شته‌های پرورش‌یافته روی گیاهان شاهد (۰/۱۹۸۰ واحد بر میلی‌گرم در پروتئین) مشاهده شد. براساس گزارش‌ها تغذیه حشرات از ترکیبات ثانویه دفاعی می‌تواند منجر به تحریک تولید گونه‌های فعال اکسیژن و رادیکال‌های آزاد شود و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان حشرات نقش مهمی را در سم‌زدایی و از بین بردن رادیکال‌های آزاد ایفاء می‌کند (Abdelsalam *et al*., 2016). بنابراین، فعالیت بالای آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در شاهد می‌تواند منجر به تجمع رادیکال‌های آزاد سوپراکسید به دلیل وجود ترکیبات ضدتغذیه‌ای و دفاعی باشد که سبب تخریب بافت‌هایی از بدن حشره که در معرض تنش اکسیداتیو قرار دارند، می‌شود (Abdelsalam *et al*., 2016).

همچنین، کم‌ترین فعالیت آنزیم کاتالاز که پراکسیدهیدروژن را به آب و اکسیژن تبدیل می‌کند (Ibrahim and Ali, 2018) در کفشدوزک شکارگر تغذیه شده از شته‌های موجود روی تیمارهای آلفا آهن و بیومین مس (۰/۰۴۵ و ۰/۰۴۵ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) و

8 . Kolmogorov– Smironov

بیشترین میزان آن در گیاهان شاهد (۰/۱۲۷ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) مشاهده شد. همچنین بین تیمارهای بیومین روی (۰/۰۶۹ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) و منگنز (۰/۰۵۷ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (P<۰/۰۵ ; df= ۴, ۱۵ ;F= ۳/۷۰). کم‌ترین فعالیت پراکسیداز در تغذیه لاروهای سن سوم کفشدوزک *H. variegata* از شته‌های پرورش‌یافته روی تیمارهای ریزمغذی آلفا آهن، بیومین مس و روی (۰/۰۰۰، ۰/۰۰۰، ۰/۰۰۱ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) و بیش‌ترین فعالیت آن در گیاهان شاهد (۰/۰۱۸ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) یافت شد (P<۰/۰۵ ;df= ۴, ۱۵ ;F= ۳۲۳/۵۸). افزایش فعالیت سوپراکسیددیسموتاز در لاروهای سن سوم کفشدوزک *H. variegata* در شاهد، نشان‌دهنده‌ی انباشته‌شدن پراکسیدهیدروژن در بدن شکارگر تحت تأثیر رژیم غذایی طعمه، ترکیبات گیاهی و عدم دسترسی به مواد غذایی مورد نیاز آن می‌باشد که سپس میزان فعالیت کاتالاز و پراکسیداز با توجه به عملکرد آن‌ها در جلوگیری از تجمع پراکسید هیدروژن و تبدیل آن به آب متقابلاً افزایش می‌یابد (Lyakhovich *et al*., 2006; Ibrahim and Ali, 2018).

بیش‌ترین فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز لاروهای سن سوم کفشدوزک در شاهد (۰/۳۲۵ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) مشاهده شد (P<۰/۰۵ ; df= ۴, ۱۵ ;F= ۱۸/۱۹) و کمترین میزان فعالیت این آنزیم در تغذیه از شته‌های پرورش‌یافته روی گیاهان تیمارشده با ریزمغذی‌های مختلف بدون اختلاف معنی‌دار بین ریزمغذی‌ها ثبت شد (جدول ۱).

در یک مطالعه پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی کفشدوزک شکارگر *Propylaea japonica* (Thunberg) را در معرض تنش حرارتی بالامطالعه کردند. نتایج نشان داد که تنش حرارتی بالا منجر به ایجاد استرس اکسیداتیو و تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌شود و این آنزیم‌ها نقش مهمی در کاهش آسیب اکسیداتیو در کفشدوزک‌های بالغ *P. japonica* داشتند (Zhang *et al*., 2015). بنابراین افزایش غلظت آسکوربات-پراکسیداز در لاروهای شکارگر می‌تواند به دلیل سم-زدایی ترکیبات پراکسید و حذف فرآورده‌های حاصل از فرآیند پراکسیداسیون لیپید در پاسخ به استرس، تنش و عدم دسترسی به مواد غذایی مورد نیاز باشد (Ibrahim and Ali, 2018).

فعالیت گلوگز ۶- فسفات دهیدروژناز نیز در تیمار-های مورد بررسی معنی‌دار بود (P<۰/۰۵ ; df= ۴, ۱۵ ;F= ۱۵/۷۵). کم‌ترین فعالیت این آنزیم در تغذیه کفشدوزک *H. variegata* از شته‌های پرورش یافته به ترتیب روی تیمارهای بیومین روی، مس و منگنز (۰/۱۵۳ ، ۰/۱۶۲ ، ۰/۲۰۶ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) و بیشترین میزان فعالیت آن در شاهد (۰/۳۴۷ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) مشاهده شد که می‌تواند نشان-دهنده‌ی تأمین انرژی از مسیر گلیکولیز باشد (Mardani-Talaee *et al*., 2016).

جدول ۱- میانگین (± خطای معیار) تأثیر کودهای ریزمغذی بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان لاروهای سن سوم کفشدوزک Hippodamia variegata تغذیه شده از Myzus persicae در فلفل دلمه

Table 1. The mean (±SE) effects of micronutrient fertilizers on activity of antioxidant enzymatic of third instar larvae of ladybird, Hippodamia variegata, fed on Myzus persicae in bell pepper.

		(Mean±SE U/mg protein)			
Treatment	SOD	CAT	POX	APX	G_6PDH
Control	0.198±0.003[a]	0.127±0.029[a]	0.018±0.000[a]	0.325±0.056[a]	0.347±0.030[a]
Mn	0.156±0.009[b]	0.057±0.016[ab]	0.007±0.000[b]	0.082±0.003[b]	0.206±0.024[bc]
Fe	0.103±0.005[c]	0.045±0.013[b]	0.000±0.000[c]	0.035±0.014[b]	0.247±0.010[b]
Cu	0.084±0.006[c]	0.045±0.012[b]	0.000±0.000[c]	0.048±0.021[b]	0.162±0.008[bc]
Zn	0.090±0.004[c]	0.069±0.010[ab]	0.001±0.000[c]	0.142±0.005[b]	0.153±0.016[c]

Means followed by different letters in the same columns are significantly different (HSD, P < 0.05). SOD, superoxide dismutase; CAT, catalase; POX, peroxidase; APX, ascorbate peroxidase; G6PDH, glucose-6-phosphate dehydrogenase.

مالون دی آلدئید (MDA)یک جزء آلی و یک گونه الکتروفیل در سیستم های بیولوژیکی است که نشان دهنده ی وقوع تنش اکسیداتیو ناشی از فرآیندهای پراکسیداسیون لیپید است و باعث ایجاد تنش های سمی و خطرناک در سلول می شود (Wang *et al.*, 2001). کم ترین میزان ترکیب مالون دی آلدهید در تغذیه لاروهای سن سوم کفشدوزک H. variegata از شته های پرورش یافته در گیاهان تیمار شده با ریزمغذی آلفا آهن و بیومین مس (۰/۰۰۹ و ۰/۰۰۹ نانو مول بر میلی گرم پروتئین) و بیش ترین میزان آن در شاهد (۰/۰۲۰ نانومول بر میلی گرم پروتئین) ثبت شد (P ; 15, 4 =df ;37/14 =F<۰/۰۵؛ جدول ۲). همچنین بین تیمارهای دیگر تفاوت معنی داری وجود نداشت. نسبت تیول های اکسید شده به تیول های کاهش یافته (RSSR/RSH) شاخصی برای وجود استرس اکسیداتیو و افزایش رادیکال های آزاد ایجاد کننده ی این استرس است (Shamakhi et al., 2020). لاروهای سن سوم کفشدوزک در تغذیه از شته-های پرورش یافته روی تیمارهای ریزمغذی آلفا آهن، بیومین مس و منگنز کم‌ترین میزان نسبت تیول و همچنین روی شاهد بیش‌ترین میزان نسبت تیول را داشتند (P ; 15, 4 =df ;52/193 =F<۰/۰۵) (جدول ۲). از آنجاییکه نسبت تیول اکسایشی به کاهشی به عنوان نشانگر اکسیداسیون رادیکال¬های آزاد در نظر گرفته می¬شود و گواه بر افزایش فرآیندهای رادیکال های اکسیداتیو است (Dubovskiy *et al.*, 2008; Shamakhi *et al.*, 2020). پس افزایش نسبت تیول اکسید شده به کاهش یافته در شاهد تحت تأثیر رژیم غذایی طعمه و نشان دهنده استرس اکسیداتیو است. در این مطالعه افزایش فعالیت تیول اکسید شده به کاهش یافته با افزایش فعالیت مالون دی‌آلدهید همراه بوده است. بنابراین، غلظت مالون دی آلدهید و همچنین نسبت RSSR/RSH در لاروهای سن سوم پرورش یافته روی گیاه شاهد در مقایسه با تیمارهای ریزمغذی افزایش معنی دار نشان داد. بنابراین می توان این نتیجه را گرفت که شته های پرورش یافته روی شاهد به عنوان طعمه پس از اتصال به سلول های پوششی معده ی میانی لاروهای کفشدوزک، باعث وقوع فرآیند پراکسیداسیون لیپید و در نتیجه ایجاد سمیت برای این سلول ها شده است. علاوه بر این، این قبیل فرآیندها می تواند سبب ایجاد اختلال در فرآیندهای اکسیداتیو فسفوریلاسیون می شود که در نهایت تولید اکسیژن های واکنش گر را در پی دارد (Dubovskiy et al., 2008).

جدول ۲- میانگین (± خطای معیار) تأثیر کودهای ریزمغذی بر ترکیبات غیر آنزیمی آنتی اکسیدان لاروهای سن سوم کفشدوزک Hippodamia variegata تغذیه شده از Myzus persicae در فلفل دلمه

Table 2. The mean (±SE) effects of micronutrient fertilizers on activity of antioxidant non-enzymatic compounds of third instar larvae of, Hippodamia variegata, fed on Myzus persicae in bell pepper.

Treatment	MDA (nM/ mg protein)	ratio RSSR/RSH
Control	0.020±0.001[a]	1.200±0.065[a]
Mn	0.012±0.001[bc]	0.252±0.011[c]
Fe	0.009±0.001[c]	0.202±0.005[c]
Cu	0.009±0.000[c]	0.241±0.008[c]
Zn	0.015±0.001[ab]	0.669±0.015[b]

Means followed by different letters in the same columns are significantly different (HSD, $P < 0.05$). MDA, malondialdehyde; RSSR/RSH, oxidized/reduced thiols

فعالیت آنزیم‌ها و میزان ترکیبات غیر آنزیمی آنتی اکسیدان لاروهای سن چهارم کفشدوزک *H. variegata*

نتایج فعالیت آنزیم‌ها و میزان ترکیبات غیر آنزیمی آنتی‌اکسیدان لاروهای سن چهارم کفشدوزک *H. variegata* تحت تأثیر تیمارهای مورد بررسی در جداول ۳ و ۴ نمایش داده شده است. نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان لاروهای سن

چهارم کفشدوزک در تغذیه از شته‌های پرورش‌یافته روی گیاهان تیمارهای ریزمغذی در مقایسه با شاهد کاهش یافت (جدول ۳). کم‌ترین فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز لاروهای سن چهارم کفشدوزک در تغذیه از شته‌های پرورش یافته روی تیمارهای آلفا آهن و بیومین مس (۰/۰۴۶ و ۰/۰۴۹ واحد بر میلی-گرم پروتئین) و بیش‌ترین فعالیت آن در گیاهان شاهد (۰/۲۰۰ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) به دست آمد (F= ۶۹/۰۲; df= ۴, ۱۵ ; P<۰/۰۵).

فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (df= ۴, ۱۵ ; P<۰/۰۵ ;F= ۲۴/۵۱)؛ پراکسیداز (df= ۴, ۱۵ ; p<۰/۰۵ ;F= ۱۰/۶۸) ؛ گلوکز ۶- فسفات دهیدروژناز (F= ۴۶/۱۵; df= ۴, ۱۵ ; P<۰/۰۵) لاروهای سن چهارم شکارگر در تمام تیمارهای ریزمغذی در مقایسه با شاهد کاهش یافت (جدول ۳). سوپر اکسید-دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات‌پراکسیداز، گلوتاتیون‌پراکسیداز و گلوکز ۶- فسفات دهیدروژناز از جمله آنزیم‌های مهم آنتی‌اکسیدان هستند (George and Gatehouse, 2013; Jena *et al.*, 2013). بنابراین نتایج نشان می‌دهد که کاهش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز و گلوکز ۶- فسفات دهیدروژناز در لاروهای سنین مختلف کفشدوزک شکارگر تغذیه‌کرده از گیاهان تیمار شده با ریزمغذی‌ها در مقایسه با شاهد، حاکی از وجود عدم تنش اکسیداتیو در آن‌ها است. به نظر می‌رسد که تغذیه شته‌های پرورش یافته روی گیاهان تیمار شده با ریزمغذی‌ها به کاهش مقادیر رادیکال‌های سوپراکسید و همچنین پراکسید هیدروژن منجر شده و در نتیجه، فعالیت آنزیم‌های مرتبط با آنها کاهش پیدا کرده است. از طرف دیگر،کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز نیز ممکن است در نتیجه‌ی کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز و کاهش تولید مولکول‌های پراکسید هیدروژن ناشی از فعالیت این آنزیم در معده-ی میانی لاروهای شکارگر باشد.

کم‌ترین فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز لاروهای سن چهارم کفشدوزک در تغذیه از شته‌های پرورش یافته در تیمارهای ریزمغذی آلفا آهن، بیومین منگنز و مس (۰/۰۰۸، ۰/۰۱۰، ۰/۰۱۲ واحد بر میلی-گرم پروتئین) و بیش‌ترین فعالیت این آنزیم در شاهد (۰/۱۳۹ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) به دست آمد (F= ۴۶/۶۹; df= ۴, ۱۵ ; P<۰/۰۵، جدول۳).

جدول ۳- میانگین (± خطای معیار) تأثیر کودهای ریزمغذی بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان لاروهای سن چهارم کفشدوزک Hippodamia variegata تغذیه شده از Myzus persicae در فلفل دلمه

Table 3. The mean (±SE) effects of micronutrient fertilizers on activity of antioxidant enzymatic of fourth instar larvae of ladybird, Hippodamia variegata, fed on Myzus persicae in bell pepper.

	(Mean±SE U/mg protein)				
Treatment	SOD	CAT	POX	APX	G_6PDH
Control	0.200±0.009[a]	0.189±0.015[a]	0.061±0.017[a]	0.139±0.013[a]	0.269±0.022[a]
Mn	0.108±0.006[b]	0.026±0.007[b]	0.005±0.001[b]	0.010±0.004[c]	0.082±0.012[b]
Fe	0.046±0.002[c]	0.022±0.006[b]	0.002±0.000[b]	0.008±0.003[c]	0.057±0.010[b]
Cu	0.049±0.006[c]	0.061±0.015[b]	0.004±0.000[b]	0.012±0.005[c]	0.061±0.010[b]
Zn	0.118±0.010[b]	0.053±0.019[b]	0.003±0.001[b]	0.071±0.010[b]	0.059±0.007[b]

Means followed by different letters in the same columns are significantly different (HSD, P < 0.05). SOD, superoxide dismutase; CAT, catalase; POX, peroxidase; APX, ascorbate peroxidase; G6PDH, glucose-6-phosphate dehydrogenase

.

برخی ترکیبات با وزن مولکولی کم مانند اسید آسکوربیک، تیول‌ها و کاروتنوئیدها به عنوان ترکیبات غیر آنزیمی در سیستم آنتی‌اکسیدانی همکاری می‌نمایند (Krishnan *et al.*, 2009). میزان ترکیب مالون‌دی‌آلدهید در بین تیمارهای مورد بررسی معنی-دار بود (F= ۲۹/۵۱; df= ۴, ۱۵ ; P<۰/۰۵). کم‌ترین میزان آن در لاروهای سن چهارم کفشدوزک‌های تغذیه شده از شته‌های پرورش یافته روی ریزمغذی-

های آلفا آهن، بیومین‌های روی و مس (۰/۰۰۳، ۰/۰۰۳، ۰/۰۰۲ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین) و بیش‌ترین میزان آن در شاهد (۰/۰۱۳ نانو مول بر میلی‌گرم پروتئین) مشاهده شد (جدول ۴). مالون‌دی-آلدهید محصول تجزیه هیدروپراکسیدهای اسیدهای چرب اشباع نشده است و غلظت آن به میزان پراکسیداسیون لیپیدی غشاء مربوط می‌شود (Meng *et al*., 2009). بیش‌ترین میزان نسبت تیول لاروهای سن چهارم کفشدوزک در تغذیه از شته‌های شاهد (۱/۰۷۵) و کم‌ترین میزان فعالیت آن در تغذیه از تیمارهای آلفا آهن (۰/۳۵۶) و بیومین منگنز (۰/۴۵۲) بدست آمد ($F=$ ۶۷/۰۸; df= ۴, ۱۵ ; $P<$۰/۰۵) (جدول ۴). در شرایط عادی فیزیولوژیکی، میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و رادیکال‌های آزاد در حشرات در حالت تعادل حفظ می‌شوند، اما در شرایط تنش مانند قرار گرفتن در معرض حشره‌کش‌ها، عوامل بیماری‌زا، تنش‌زا، تحت تأثیر ترکیبات گیاهی و رژیم غذایی طعمه ممکن است سطح آنزیم‌ها و رادیکال های آزاد تغییر کند و این امر تعادل را مختل می‌کند (Kayser and Palivan, 2006). در بررسی شته‌های *M. persicae* تیمار شده با غلظت‌های آزادیراختین، توانایی شکارگری، نرخ حمله و شکار روزانه لاروها و حشرات بالغ کفشدوزک *Harmonia axyridis* Pallas کاهش یافته و گزارش شده است که آزادیراختین با داشتن اثرات ضد تغذیه‌ای فعالیت آنزیم‌های محافظتی از جمله سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز شکارگر را تحت تأثیر قرار داده و منجر به جلوگیری از رشد کفشدوزک *H. axyridis* شده است (Qin *et al*., 2021). بنابراین، نتایج فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان لاروهای کفشدوزک *H. variegata* در تغذیه از شته‌های پرورش یافته روی تیمارهای ریزمغذی نشان می‌دهد که میزان مالون‌دی‌آلدهید و نسبت تیول لاروهای سن چهارم در تیمارهای ریزمغذی در مقایسه با شاهد کاهش یافته است. کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات غیر آنزیمی آنتی‌اکسیدانی در تیمارهای ریزمغذی نشان‌دهندهٔ پایین بودن سطح سمیت و تنش شیمیایی به علت میزان پایین گونه‌های فعال اکسیژن و رادیکال‌های آزاد در بدن شکارگر می-باشد و برعکس.

جدول ۴- میانگین (± خطای معیار) تأثیر کودهای ریزمغذی بر ترکیبات غیر آنزیمی آنتی اکسیدان لاروهای سن چهارم کفشدوزک Hippodamia variegata تغذیه شده از Myzus persicae در فلفل دلمه

Table 4. The mean (±SE) effects of micronutrient fertilizers on activity of antioxidant non-enzymatic compounds of fourth instar larvae of ladybird, Hippodamia variegata, fed on Myzus persicae in bell pepper

Treatment	MDA (nM/ mg protein)	ratio RSSR/RSH
Control	0.013±0.001[a]	1.075±0.070[a]
Mn	0.007±0.000[b]	0.452±0.013[d]
Fe	0.003±0.001[c]	0.356±0.015[d]
Cu	0.002±0.000[c]	0.615±0.023[c]
Zn	0.003±0.000[c]	0.773±0.007[b]

Means followed by different letters in the same columns are significantly different (HSD, P < 0.05). MDA, malondialdehyde; RSSR/RSH, oxidized/reduced thiols

روابط و اثرات متقابل سه سطح تغذیه‌ی اصلی زیست بوم‌های کشاورزی یعنی گیاهان- گیاه‌خواران و دشمنان طبیعی بسیار پیچیده می‌باشد. گیاهان میزبان به عنوان سطح اول تغذیه (و یکی از مهم‌ترین عوامل موثر از پایین به بالا[9]) از طریق خصوصیات مرفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی پراسنجه‌های زیستی و فیزیولوژیک حشره گیاه‌خوار و دشمن طبیعی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Kalushkou and Hodek, 2004). از سوی دیگر گیاه‌خواران (از جمله عوامل بالا به پایین[10]) که از گیاهان میزبان تغذیه می‌کنند، به

9 Bottom-up

10 Top-down

نوبه‌ی خود منابع غذایی برای دشمنان طبیعی هستند، در نتیجه گونه‌هایی که در سطوح غذایی بالا قرار دارند به طور غیر مستقیم تحت تأثیر برهم‌کنش بین گیاه و گیاه‌خوار قرار می‌گیرند (Price *et al*., 1980). از این رو، گیاهان میزبان از طریق دفاع مستقیم (به صورت شیمیایی و مورفولوژیکی) و غیرمستقیم (از طریق دشمنان طبیعی) علیه گیاه‌خواران موثر می‌باشند و بدین وسیله بر تعاملات چندگانه تأثیر می‌گذارند. در واقع، تغییر در کیفیت گیاه میزبان به طور چشمگیری کارایی گیاه‌خوار را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Thompson, 1999). امروز به منظور تهیه غذای سالم، سعی و تلاش بر این است تا با استفاده از روش‌های مناسب و سازگار با محیط زیست، مانند استفاده از عوامل بیوکنترل، روش‌های زراعی و کودهای ریزمغذی، با ایجاد مقاومت در گیاهان میزبان، میزان مصرف سموم و کودهای شیمیایی به حداقل مقدار ممکن کاهش دهند (Mardani-Talaee *et al*., 2016; Alizamani *et al*., 2021b; Pourya *et al*., 2021). استفاده از ریزمغذی‌ها به عنوان ترکیبات معدنی مورد نیاز رشد گیاهان و موثر بر مسیرهای متابولیکی، فرآیندهای سلولی و سنتز ماکرومولکول‌ها می‌توانند با تغییر ترکیبات بیوشیمیایی گیاهان میزبان، تأثیر منفی بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی و متابولیسم‌های واسطه آفت داشته باشند؛ از سوی دیگر به دلیل وجود افزایش متابولیت ثانویه میزان فعالیت آنزیم‌های سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان شته افزایش می‌یابد (Babaei *et al*., 2017; Alizamani *et al*., 2021a; Pourya *et al*., 2021). نتایج مطالعات پیشین نشان می‌دهد که کودهای ریزمغذی با تغییر در کیفیت گیاهان میزبان حشرات گیاه‌خوار از طریق بهبود خصوصیات مرفولوژیک، فیزیولوژیک و فیتوشیمیایی و با تولید فنول در بافت گیاهی و القاء مقاومت آنتی‌بیوز منجر به اختلال در فرآیندهای فیزیولوژی و کاهش پارامترهای جدول زندگی شته سبز هلو شده است (Alizamani *et al*., 2020; Alizamani *et al*., 2021a; Alizamani *et al*., 2021b). از سوی دیگر، فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدان (سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات‌پراکسیداز) در شته سبز هلو پرورش یافته روی گیاه فلفل دلمه تیمار شده با کودهای ریزمغذی به علت بروز تنش شیمیایی و حضور مواد مضر در بدن شته سبز هلو افزایش یافت. زیرا این آنزیم‌ها نقش مهمی را در سم‌زدایی ترکیبات زنوبیوتیک ایفا می-کنند (Alizamani *et al*., 2021b). بررسی‌ها نشان می‌دهد که استفاده از کودهای ریزمغذی و زیستی فعالیت متابولیت‌های واسطه، سم‌زدایی و قابلیت هضم حشرات آفات مکنده را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Mardani-Talaee *et al*., 2016; Alizamani *et al*., 2021b; Pourya *et al*., 2021). پاسخ دفاعی گیاهان و تولید ترکیبات شیمیایی ثانویه به حمله حشرات آفات مکنده از جمله شته‌ها، با ایجاد سمیت و تولید رایکال-های آزاد در بدن آفت منجر به تغییر در آنزیم‌های سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان حشرات می‌شود (Megali *et al*., 2014). اگرچه تاکنون گزارشی در مورد تأثیر ریزمغذی‌ها بر سامانه‌ی آنتی‌اکسیدانی دشمنان طبیعی ارائه نشده است، اما نتایج سطح سوم نشان-دهنده‌ی مثبت بودن تاثیر تیمارهای ریزمغذی نسبت به شاهد بر نشو و نمای شکارگر می‌باشد (Mirab-balou and Alizamani, 2022).

تأثیر تیمارهای ریزمغذی بر میزان فعالیت اجسام ذخیره‌ای لارو سن سوم کفشدوزک *H. variegata*

نتایج تأثیر محلول‌پاشی کودهای ریزمغذی بر اجسام ذخیره‌ای لاروهای سن سوم کفشدوزک *H. variegata* معنی‌دار بود و میزان اجسام ذخیره‌ای کفشدوزک شکارگر در تغذیه از شته‌های پرورش‌یافته روی گیاهان تیمار شده با کودهای ریزمغذی در مقایسه با شاهد افزایش یافت (جدول ۵). بیش‌ترین فعالیت تری-گلیسرید لاروهای سن سوم شکارگر در تغذیه از شته-های پرورش یافته روی تیمارهای آلفا آهن و بیومین منگنز (۰/۰۰۴ و ۰/۰۰۳ میلی‌گرم بر میلی لیتر) و کم‌ترین میزان آن در شاهد (۰/۰۰۱ میلی‌گرم بر میلی لیتر) یافت شد ($F=$ ۶۵/۱۴; df= ۴, ۱۵ ; $P<$۰/۰۵). بیش‌ترین و کم‌ترین میزان گلیکوژن لاروهای سن سوم به ترتیب در تغذیه از شته‌های پرورش‌یافته روی تیمارهای آلفا آهن (۰/۰۷۲) و شاهد (۰/۰۰۶ میلی-گرم بر میلی لیتر) مشاهده شد ($P<$۰/۰۵ ; ۴, ۱۵

F= ۲۶/۲۸; df=). همچنین بیش‌ترین میزان پروتئین لاروهای سن سوم شکارگر در تغذیه از شته‌های تیمارهای آلفا آهن و بیومین مس (۰/۹۱۱و ۰/۸۸۶ میلی‌گرم بر میلی لیتر) و کم‌ترین میزان فعالیت آن در شاهد (۰/۵۲۵ میلی‌گرم بر میلی لیتر) ثبت گردید (F= ۴/۶۰; df= ۴, ۱۵ ; P<۰/۰۵).

جدول ۵. میزان اجسام ذخیره ای لاروهای سن سوم کفشدوزک، Hippodamia variegata تغذیه شده از Myzus persicae روی فلفل دلمه تیمار شده با کودهای ریزمغذی.

Table5. The amount of storage macromolecules of third instar larvae of ladybird, Hippodamia variegata, fed on Myzus persicae in bell pepper treated with micronutrient fertilizers.

Treatments	Triacylglyceride (Mean±SE mg/mL)	Glycogen	Protein
Control	0.001±0.000[d]	0.006±0.002[c]	0.525±0.036[b]
Mn	0.003±0.000[a]	0.050±0.005[b]	0.589±0.127[ab]
Fe	0.004±0.000[a]	0.072±0.002[a]	0.911±0.062[a]
Cu	0.002±0.000[c]	0.035±0.004[b]	0.886±0.072[a]
Zn	0.002±0.000[b]	0.048±0.006[b]	0.757±0.076[ab]

Means followed by different letters in the same columns are significantly different (HSD, P < 0.05).

تأثیر تیمارهای ریزمغذی بر میزان اجسام ذخیره‌ای لارو سن چهارم کفشدوزک *H. variegata*

میزان تری‌گلیسرید (F= ۵۳/۳۹; df= ۴, ۱۵ ; P<۰/۰۵)، گلیکوژن (F= ۶۰/۹۷; df= ۴, ۱۵ ; P<۰/۰۵) و پروتئین (F= ۴/۳۹; df= ۴, ۱۵ ; P<۰/۰۵) لاروهای سن چهارم کفشدوزک تحت تأثیر کودهای ریزمغذی قرار گرفت (جدول ۶). بیش‌ترین و کم‌ترین میزان تری‌گلیسرید لاروهای سن چهارم شکارگر به ترتیب در تغذیه از شته‌های موجود در تیمار آلفا آهن (۰/۰۰۳ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) و شاهد (۰/۰۰۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) ثبت شد. بیش‌ترین میزان گلیکوژن لاروهای سن چهارم شکارگر در تیمار بیومین مس (۰/۰۷۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) و کم‌ترین میزان آن به ترتیب در تغذیه از شته‌های موجود در شاهد و تیمار بیومین منگنز (۰/۰۰۳ و ۰/۰۰۷ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) بدون اختلاف معنی‌دار بین این دو ثبت شد. بیش‌ترین میزان پروتئین (۰/۹۸۱ و ۰/۹۶۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) لاروهای سن چهارم کفشدوزک *H. variegata* به ترتیب در تغذیه از شته‌های پرورش یافته در تیمارهای آلفا آهن و بیومین مس بدون اختلاف معنی‌دار بین این دو ثبت شد و کم‌ترین میزان آن (۰/۷۳۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) در تیمار شاهد به دست آمد.

جدول ۶- میزان اجسام ذخیره‌ای لاروهای سن چهارم کفشدوزک، *Hippodamia variegata* تغذیه‌شده از *Myzus persicae* روی فلفل دلمه تیمارشده با کودهای ریزمغذی.

Table 6. The amount of storage macromolecules of fourth instar larvae of ladybird, *Hippodamia variegata*, fed on *Myzus persicae* in bell pepper treated with micronutrient fertilizers.

Treatments	Triacylglyceride (Mean±SE mg/mL)	Glycogen	Protein
Control	0.001±0.000[c]	0.003±0.000[c]	0.736±0.036[b]
Mn	0.002±0.000[b]	0.007±0.000[c]	0.878±0.040[ab]
Fe	0.003±0.000[a]	0.025±0.003[b]	0.981±0.058[a]
Cu	0.002±0.000[b]	0.078±0.006[a]	0.968±0.047[a]
Zn	0.002±0.000[b]	0.033±0.002[b]	0.894±0.047[ab]

Means followed by different letters in the same columns are significantly different (HSD, *P* < 0.05).

مواد غذایی پس از انتقال به اجسام چربی به صورت اجسام ذخیره‌ای یعنی پروتئین، تری‌گلیسرید و گلیکوژن ذخیره می‌شود. بقای حشرات در محیط به اجسام ذخیره‌ای وابسته می‌باشد با توجه به این که اجسام ذخیره‌ای در تامین انرژی مورد نیاز، عملکرد، تولیدمثل و زمستان‌گذرانی حشرات نقش دارند (Nation, 2008). حشرات پس از هضم و جذب غذای خورده شده، آن را به صورت ماکرومولکول‌های ذخیره-ای از جمله پروتئین، گلیکوژن و تری‌گلیسیرید در اجسام چربی خود ذخیره می‌کنند. این مولکول‌های ذخیره شده در طول فرآیندهای بیولوژیکی یا فعالیت-های مانند پرواز، تولیدمثل، زمستان‌گذرانی و ترمیم بافت مورد استفاده قرار می گیرند. چندین چرخه و آنزیم برای به دست آوردن انرژی از ذخایر غذایی موجود در اجسام چربی دخیل هستند. اجسام ذخیره-ای پروتئین، گلیکوژن و تری‌گلیسرید باید به طور صحیح در طول دوره‌ی لاروی ذخیره شوند به این دلیل که نقش مهمی در عملکرد حشرات بالغ و به ویژه در تولیدمثل دارند (Rahimi *et al*., 2017). در این مطالعه میزان اجسام ذخیره‌ای شکارگر که به وضعیت تغذیه و مرحله رشد حشرات بستگی دارد در لاروهای سنین سوم و چهارم کفشدوزک *H. variegata* در تغذیه از تیمارهای ریزمغذی در مقایسه با شاهد افزایش یافت. افزایش میزان اجسام وقفه‌ی فیزیولوژی و ایجاد تنش اکسیداتیو می-شود.

نتیجه‌گیری

امروزه، در سیستم‌های کشاورزی بر استفاده از ترکیباتی تاکید می‌گردد که ضمن کاهش خسارت اقتصادی آفات و با کم‌ترین تأثیر بر محیط زیست، منجر به تولید محصولات سالم شود. کودهای ریزمغذی از طریق تغییر در کیفیت گیاهان میزبان حشرات گیاه‌خوار می‌توانند جنبه‌های مختلفی از ویژگی‌های فیزیولوژی سطوح غذایی بالاتر را در برهم‌کنش گیاه- گیاه‌خوار- دشمن طبیعی تحت تأثیر قرار دهند. لذا با توجه به یافته‌های قبلی کودهای ذخیره‌ای در تیمارهای ریزمغذی می‌تواند حاکی از سازگاری تیمارهای ریزمغذی به عنوان میزبان مناسب برای کفشدوزک *H. variegata* می‌باشد. افزایش میزان اجسام ذخیره‌ای پروتئین، گلیکوژن و تری‌گلیسرید لاروهای کفشدوزک *H. variegata* در تیمارهای ریزمغذی می‌تواند به علت در دسترس بودن مواد غذایی، محتوای بالای پروتئین، کربوهیدرات و اسیدهای چرب، همچنین روند صحیح هضم و جذب مواد غذایی، انتقال مثبت و موثر این ترکیبات از دستگاه گوارش به همولنف و اجسام چربی باشد (Rahimi *et al*., 2017). همچنین با توجه به افزایش اجسام ذخیره‌ای شکارگر در تیمارهای ریزمغذی می-توان گفت فرآیند هضم و جذب مواد غذایی در لاروهای کفشدوزک *H. variegata* به علت عدم وجود بازدارنده‌های غذایی و آنزیمی به صورت موثر صورت گرفته است که با انتقال مواد غذایی از همولنف و دستگاه گوارش به اجسام چربی، سطح اجسام ذخیره-ای را افزایش داده و متعاقباً می‌تواند منجر به بهبود کارآیی شکارگر در کنترل موثر طعمه شود. از طرفی افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و کاهش اجسام ذخیره‌ای در شاهد می‌تواند به علت وجود مهارکننده‌های آنزیمی و کاهش مواد مغذی در دسترس لاروها در رژیم غذایی باشد که به صورت یک عامل آنتی‌بیوزی عمل می‌کنند و منجر به ایجاد ریزمغذی سبب افزایش ترکیبات ثانویه دفاعی، کاهش پراسنجه‌های جدول زندگی، و همچنین افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شته سبز هلو شد. از سوی دیگر، در سطوح بالاتر غذایی کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و ترکیبات غیر آنزیمی آنتی-اکسیدان و نیز افزایش میزان اجسام ذخیره‌ای لاروهای کفشدوزک *H. variegata* در تیمارهای ریزمغذی حاکی ازآن است که کاربرد عناصر ریزمغذی با تأثیر در برهم‌کنش فلفل دلمه- شته سبز هلو، بر فعالیت آنزیمی شکارگر *H. variegata* موثر بوده است. بنابراین، به منظور کاهش اثرات جانبی زیست‌محیطی ناشی از مصرف بی‌رویهٔ کودهای شیمیایی، محلول-پاشی عناصر ریزمغذی علاوه بر دارا بودن مزایایی

مانند قرار دادن مواد غذایی با سرعت و هزینه کم در اختیار گیاه، با ایجاد تعادل در تغذیه و بهبود فرآیندهای رشدی گیاهان و تأثیر مثبت بر فعالیت شکارگر می‌تواند به عنوان یک راهکار کارآمد در برنامه‌های مدیریت تلفیقی در تولید و کنترل محصولات و آفات گلخانه‌ای توصیه شود.

سپاسگزاری

بدین وسیله از همکاری گروه گیاه‌پزشکی و کارکنان دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه لرستان جهت همکاری برای انجام این پژوهش تقدیر و تشکر می‌گردد.

REFERENCES

1. Abdelsalam, S. A., Awad, A. M. A., Abdelrahman, M. A. A., Nasser, M. A. K. & Abdelhamid, M. R. (2016). Antioxidant defense response of the green peach aphid, *Myzus persicae* against secondary metabolites of the host plants cumin, anise, and coriander. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 18, 1583-1592.
2. Addy, S. K. & Goodman, R. N. (1972). Polyphenol oxidase and peroxidase in apple leaves inoculated with a virulent or an avirulent strain for *Erwinia amylovora*. *Indian Phytopathology*, 25, 575-579.
3. Alizamani, T., Shakarami, J., Mardani-Talaee, M., Zibaee, A. & Serrão, J. E. (2020). Direct interaction between micronutrients and bell pepper (*Capsicum annuum* L.), to affect fitness of *Myzus persicae* (Sulzer). *Journal* of *Plant Protection Research*, 60, 253-262
4. Alizamani, T., Shakarami, J., Mardani-Talaee M., Zibaee A. & Serrao J. E. (2021a). Induce of antibiotic resistance in bell pepper, *Capsicum annuum* L, against green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer), by micronutrient fertilizers. *Iranian Journal of Plant Protection Science*, 52(2), 73-85.
5. Alizamani, T., Shakarami, J., Mardani-Talaee, M., Zibaee, A. & Serrão, J. E. (2021b). Micronutrient fertilizers affect the digestibility, intermediary metabolism, and oxidative stress in *Myzus persicae* (Sulzer). *Neotropical Entomology*, 50, 940-947.
6. Asada, K. (1984). Chloroplasts: formation of active oxygen species and its scavenging. *Methods in Enzymology*, 105, 422-429.
7. Babaei, K., Seyed Sharifi, R., Pirzad, A. & Khalilzadeh, R. (2017). Effects of biofertilizer and nano Zn-Fe oxide on physiological traits, antioxidant enzymes activity and yield of wheat (Triticum aestivum L.) under salinity stress. *Journal of Plant Interactions*, 12, 381-389.
8. Balinsky, D. & Bernstein, R. E. (1963). The purification and properties of glucose-6- phosphate dehydrogenase from human erythrocytes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 67, 313-315.
9. Bar-Or, D., Rael, L. T., Lau, E. P., Rao, N. K., Thomas, G. W., Winkler, J. V., Yukl, R. L., Kingston, R. G. & Curtis, C. G. (2001). An analog of the human albumin N-terminus (Asp- Ala-His-Lys) prevents formation of copper-induced reactive oxygen species. *Biochemical* and *Biophysical Research Communications*, 284, 856-862.
10. Capinera, J. L. (2001). *Handbook of Vegetable Pests*. Academic Press, San Diego, 729 pp.
11. Chainy, G. B. N., Paital, B. & Dandapat, J. (2016). An overview of seasonal changes in oxidative stress and antioxidant defence parameters in some invertebrate and vertebrate species. *Hindawi Publishing Corporation*, 1-8.
12. Chavez Mendoza, C., Sanchez, C., Munoz Marquez, E., Sida Arreola, J. P. & Flores Cordova, M. A. (2015). Bioactive compounds and antioxidant activity in different grafted varieties of bell pepper. *Antioxidants*, 4, 427-446.
13. Chun, Y. & Yin, Z. D. (1998). Glycogen assay for diagnosis of female genital *Chlamydia trachomatis* infection. *Journal of Clinical Microbiology*, 36, 1081-1082.
14. Dubovskiy, I. M., Martemyanov, V. V., Vorontsova, Y. L., Rantala, M. J., Gryzanova, E. V. & Glupov, V. V. (2008). Effect of bacterial infection on antioxidant activity and lipid peroxidation in the midgut of *Galleria mellonella* L. larvae (Lepidoptera, Pyralidae). *Comp Biochem Physiol Part C: Toxicol Pharmacol*, 148, 1-5.
15. Fallahpour, F., Ghorbani, R., Nassiri Mahallati, M. & Hosseini, M. (2015). Interaction of different nitrogen fertilization regimes of canola with mustard aphid (*Lipaphis erysimi* Kalt.) and the predatory gall midge (*Aphidoletes aphidimyza* Rondani). *Biological Control of Pests and Plant Diseases*, 4, 1-12.
16. Ferreira, C. & Terra, W. R. (1983). Physical and kinetic properties of a plasma-membrane-bound *P*-Dglucosidase (cellobiase) from midgut cells of an insect *Rhynchosciara americana* larva. *Biochemical Journal*, 213, 43-51.
17. Fossati, P. & Prencipe, L. (1982). Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clinical Chemistry*, 28, 2077-2080.

18. Francis, F., Gerkens, P., Harmel, N., Mazzucchelli, G., De Pauw, E. & Haubruge, E. (2006). Proteomics in *Myzus persicae*: Effect of aphid host plant switch. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 36, 219-227.
19. George, G .D. & Gatehouse, A. M. R. (2013). Oxidative stress enzymes in *Busseola fusca*. *International Journal* of *Current Microbiology* and *Applied* Sciences, 2, 485-495.
20. Hahn, D. A. & Denlinger, D. L. (2007). Meeting the energetic demands of insect diapause: nutrient storage and utilization. *Journal of Insect Physiology*, 53, 760- 773.
21. Hansch, R. & Mendel, R. R. (2009). Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). *Current Opinion in Plant Biology*, 12, 259-266.
22. Ibrahim, A. M. & Ali, A. M. (2018). Silver and zinc oxide nanoparticles induce developmental and physiological changes in the larval and pupal stages of *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 21, 1373-1378.
23. Jena, K. K., Kumar, P., Kausar, Z. & Babu, C. S. (2013). Effects of temperature on modulation of oxidative stress and antioxidant defenses in testes of tropical tasar silkworm *Antheraea mylitta. Journal of Thermal Biology*, 38, 199-204.
24. Kalushkov, P. & Hodek, I. (2004). The effects of thirteen species of aphids on some life history parameters of the ladybird *Coccinella septempunctata*. *Biological Control*, 50, 223-233.
25. Kayser, H. and Palivan, C. G. (2006). Stable free radicals in insect cuticles: electron spin resonance spectroscopy reveals differences between melanization and sclerotization. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 453, 179-187.
26. Khan, A. A. & Mir, R. A. (2008). Functional response of four predaceous coccinellid, *Adalia tetraspilota* (Hope), *coccinella septempunectata* L., *Calvia punctata* (Mulsant) and *Hippodamia variegata* (Goeze) feeding on green apple aphid, *Aphis pomi* De Geer (Homoptera: Aphididae). *Biological control*, 22, 291-298.
27. Khramtsov, V. V., Yelinova, V. I., Glazachev, Y. I., Reznikov, V. A. and Zimmer, G. (1997). Quantitative determination and reversible modification of thiols using imidazolidine biradical disulfide label. *Journal* of *Biochemical* and *Biophysical Methods*, 35, 115-128.
28. Krishnan, N., Kodrik, D., Kłudkiewicz, B. & Sehnal, F. (2009). Glutathione-ascorbic acid redox cycle and thioredoxin reductase activity in the digestive tract of *Leptinotarsa decemlineata* (Say). *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 39, 180-188.
29. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265-275.
30. Lyakhovich, V. V., Vavilin, V. A., Zenkov, N. K. & Menshchikova, E. B. (2006). Active defense under oxidative stress. The antioxidant responsive element. *Biochemistry (Moscow)*, 71, 962-974.
31. Mardani-Talaee, M., Zibaee, A., Nouri-Ganblani, G. & Razmjou, J., (2016). Chemical and organic fertilizers affect physiological performance and antioxidant activities in *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). *Invertebrate Survival Journal*, 13, 122-133.
32. McCord, J. M. & Fridovich, I. (1969). Superoxide dismutase, An enzymic function for erythro-cuprein (hemocuprein). *Journal of Biological Chemistry*, 244, 6049-6055.
33. Megali, L., Glauser, G. & Rasmann, S. (2014). Fertilization with beneficial microorganism's decreases tomato defenses against insect pests. *Agronomy for Sustainable Development*, 34, 649-656.
34. Meng, J. Y., Zhang, C. Y., Zhu, F., Wang, X. P. & Lei, C. L. (2009). Ultraviolet light-inducedoxidative stress: effects on antioxidant response of Helicoverpa armigera adults. *Journal of Insect Physiology*, 55, 588-592
35. Mirab-balou, M. & Alizamani, T. (2022). The effect of nutritional interaction between micronutrient fertilizers and *Capsicum annuum* L. on the population growth of *Aphidoletes aphidimyza* Rondani as predator of green peach aphid. *Journal of Iranian Plant Protection Research*, 35, 481-494.
36. Mottaghinia, L., Hassanpour, M., Razmjou, J., Chamani, E. & Hosseini, M. (2015). The effect of vermicompost on some biological characteristics of the melon aphid *Aphis gossypii* Glover and the predatory gall midge *Aphidoletes aphidimyza* Rondani on two cultivars of greenhouse cucumber. *Applied research in plant protection*, 4, 56-70.
37. Nation, J. L. (2008). *Insect physiology and biochemistry* (2nd ed.). London: CRC press, UK.
38. Obrycki, J. J. & Orr, C. J. (1990). Suitability of three prey species for Nearctic populations of *Coccinella septempunctata*, *Hippodamia variegata* and *Propylea quatuordecimpunctata* (Coleoptera: Coccinellidae). *Journal* of *Economic Entomology*, 83, 1292-1297.
39. Omkar James, B. E. (2004). Influence of prey species on immature survival, development, predation and reproduction of *Coccinella transversalis* Fabricius (Col.: Coccinellidae). *Journal of Applied Entomology*, 128, 150-157.

40. Omkar, O. & Srivastava, S. (2000). Influence of six aphid prey species on development and reproduction of ladybird beetle, *Coccinella septempunctata. Biological Control*, 48, 379-393.
41. Pourya, M., Shakarami, J., Mardani-Talaee, M., Sadeghi, A. & Eduardo Serrão, J. (2021). Bio-fertilizers and micronutrients affect the digestibility, detoxification, and intermediary metabolisms of English grain aphid, *Sitobion avenae*, in greenhouse. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 24, 704-710.
42. Price, P. W., Bouton, C. E., Gross, P., McPheron, B. A., Thompson, J. N. & Weis, A. (1980). Interactions among three trophic levels: Influence of plants on interactions between insect herbivores and natural enemies. *Annual Reviews of Ecology and Systematics*, 11, 41-65.
43. Qin, D., Liu, B., Zhang, P., Zheng, Q., Luo, P., Ye, C., Zhao, W. & Zhang, Zh. (2021). Treating green pea aphids, *Myzus persicae*, with azadirachtin affects the predatory ability and protective enzyme activity of harlequin ladybirds, *Harmonia axyridis. Ecotoxicology and Environmental Safety*, 212, 111984.
44. Rahimi, V., Hajizadeh, J., Zibaee, A. & Jalali sendi, J. (2017). Toxicity and physiological effects of an extracted lectin from Polygonum persicaria L. on Helicoverpa armigera (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Physiological and Molecular Plant Pathology*, xxx, 1-7.
45. Shamakhi, L., Zibaee, A., Karimi-Malati, A. & Hoda, H. (2020). Simultaneous effects of thermal stress and fungal infection on lipid peroxidation and antioxidant system of rice-striped stem borer, *Chilo suppressalis* Walker (Lepidoptera: Crambidae). *Biological Rhythm Research*, 51, 225-237.
46. Steele, J. E. (1982). Glycogen- phosphorylase in insects. *Insect Biochemistry*, 12, 131-147.
47. Thompson, S. N. (1999). Nutrition and culture of entomophagous insects. *Annual Review of Entomology*, 44, 561-592.
48. Wang, Y., Oberley, L. W. & Murhammer, D. W. (2001). Evidence of oxidative stress following the viral infection of two Lepidopteran insect cell lines. *Free Radical Biology and Medicine*, 31, 1448-1455.
49. Zhang, Sh., Fu, W., Li, N., Zhang, F. Liu, T-X. (2015). Antioxidant responses of Propylaea japonica (Coleoptera: Coccinellidae) exposed to high temperature stress. *Journal of Insect Physiology*, 73, 47-52