

تأثیر عصاره اکدیستروئیدی سرخس شترمرغی (*Matteuccia struthiopteris* (Onocleaceae) روی پارامترهای دموگرافی شب پره پشت الماسی (*Plutella xylostella* (Lepidoptera:Plutellidae)

فاطمه تابع بردبار^۱ و سعید محرمی پور^{۲*}

۱ و ۲. کارشناس ارشد و دانشیار، گروه حشره‌شناسی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۷/۲۸ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۹/۱۱)

چکیده

امروزه بررسی‌ها برای استفاده از عصاره‌های گیاهی مانند اکدیستروئیدهای گیاهی، به دلیل توانایی بالا در کنترل آفات در حال افزایش است. گزارش‌هایی از وجود ترکیبات اکدیستروئیدی در برخی گونه‌های سرخس وجود دارد، اما تاکنون گزارشی از اثر چنین ترکیباتی در سرخس شترمرغی در دست نیست. در این پژوهش، اثر غلظت‌های زیرکشنده عصاره متانولی گیاه سرخس شترمرغی (*Matteuccia struthiopteris* (L.) (Onocleaceae) روی شب پره پشت الماسی (بید کلم) (*Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera:Plutellidae) بررسی شد. لاروهای سن سوم شب پره پشت الماسی به مدت دو روز از غذای تیمار شده با عصاره متانولی تغذیه کردند. سپس روی برگ‌های تیمار نشده پرورش داده شدند تا حشرات کامل خارج شدند. از تخم‌های حاصل از جفت‌گیری حشرات کامل برای انجام آزمایش‌های دموگرافی استفاده شد. آزمایش‌ها در شرایط دمایی 27 ± 1 درجه سلسیوس و رطوبت 65 ± 5 درصد و شرایط نوری ۸:۱۶ (روشنایی و تاریکی) بررسی شد. لاروهای خارج شده از تخم در نسل جدید روی برگ‌های تیمار نشده پرورش یافتند. نتایج نشان داد که نرخ خالص تولید مثل (R_0)، نرخ ذاتی افزایش جمعیت (r_m)، نرخ متناهی افزایش جمعیت (λ) با افزایش عصاره کاهش یافت. بیشترین نرخ ذاتی افزایش جمعیت و نرخ متناهی جمعیت به ترتیب 0.19 ± 0.002 (روز) و $1/21 \pm 0.06$ (روز) در غلظت ۰/۶۹ درصد بود. پژوهش حاضر نشان داد که با افزایش غلظت عصاره، مدت زمان یک نسل (T) و مدت زمان دو برابر شدن جمعیت (DT) افزایش یافته است. با توجه به نتایج فوق، عصاره متانولی سرخس شترمرغی به عنوان یک ترکیب کم‌خطر توانایی زیادی در کنترل شب پره پشت الماسی دارد و می‌توان از عصاره متانولی سرخس شترمرغی به عنوان ترکیب مؤثر در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: اکدیستروئیدهای گیاهی، سرخس شترمرغی، شب پره پشت الماسی، دموگرافی.

مقدمه

(Blackford et al., 1996; Blackford & Dinan, 1997). حشرات گیاه‌خوار پس از تغذیه از گیاهان دارای این ترکیبات دچار مشکلاتی از جمله کاهش وزن و اختلال در پوست‌اندازی می‌گردند و در نهایت ممکن است این جریان سبب مرگ آنها شود (Dinan, 2001).

اکدیستروئیدهای گیاهی^۱ در بافت‌ها و اندام‌های تعدادی از خانواده‌های گیاهی وجود دارند (Dinan, 2001; Malausa et al., 2006; Rharrabe et al., 2010) و ساختاری مشابه هورمون پوست‌اندازی حشرات دارند

Plutella xylostella (L.) (Lepidoptera: Plutellidae)

بررسی شد.

شب‌پره پشته‌الماسی آفت عمده محصولات خانواده چلیپائی‌ان و چندین محصول گلخانه‌ای است. برای کنترل جمعیت این آفت در سرتاسر جهان از حشره‌کش‌های شیمیایی استفاده می‌شود. استفاده از این ترکیبات در سطح وسیع سبب بروز مقاومت در حشره و طغیان مجدد آن، از بین رفتن دشمنان طبیعی و موجودات غیرهدف شده است (Yin *et al.*, 2008). تاکنون گزارشی مبنی بر سمیت گوارشی عصاره‌های گیاهی حاوی ترکیبات اکدیستروئیدی از جمله سرخسیان روی شب‌پره پشته‌الماسی ثبت نشده است. اما در منابع و پایگاه‌های اطلاعاتی در دسترس، اطلاعات فراوانی درباره تأثیر حشره‌کش‌های شیمیایی بر پارامترهای دموگرافیک شب‌پره پشته‌الماسی وجود دارد. مطالعات متعدد نشان می‌دهد که استفاده از دزهای زیرکشنده حشره‌کش‌ها می‌تواند بر پارامترهای دموگرافی از جمله طول دوره لاروی، شفیرگی و حشره کامل (Yin *et al.*, 2008)، طول عمر حشرات کامل (Sayyed *et al.*, 2008; Eziah *et al.*, 2005)، باروری و بارآوری (Fujiwara *et al.*, 2002; Haseeb *et al.*, 2002)، پارامترهای تولیدمثل از جمله نرخ خالص تولیدمثل (R_0)، نرخ ذاتی افزایش جمعیت (r_m)، نرخ متناهی افزایش جمعیت (λ)، مدت زمان یک نسل (T) و مدت زمان دو برابر شدن جمعیت (DT) (Mahmoudvand *et al.*, 2011) تأثیر بگذارد.

در راستای تحقق بخشیدن به اهدافی مانند کاهش مصرف سموم شیمیایی، حفظ سلامتی انسان و محیط زیست و هم‌گام با پژوهش‌های جهانی به منظور تولید ترکیبات آفت‌کش با منشأ گیاهی، این پژوهش روی عصاره سرخس شترمرغی انجام گرفت. با توجه به ترکیبات مؤثر موجود در خانواده سرخسیان و همچنین جدید بودن بررسی اثر حشره‌کشی عصاره آن، یکی از اهداف اصلی این پژوهش تأثیر عصاره متانولی سرخس شترمرغی بر پارامترهای دموگرافی شب‌پره پشته‌الماسی بود. سرخسیان از جمله گیاهانی‌اند که وجود ترکیبات مختلف اکدیستروئیدی از جمله 20-Hydroxyecdysone در آنها گزارش شده است. با استفاده از دستگاه HPLC

این ترکیبات در غلظت‌های زیرکشنده، بازدارنده تغذیه و دورکننده حشرات‌اند (Lafont, 1997). اکدیستروئیدهای گیاهی پتانسیل بالایی برای حفاظت از محصولات کشاورزی در برابر حشرات آفت دارند و قادر به حفاظت از مراحل مختلف رشدی گیاه در برابر حشرات‌اند. این ترکیبات به علت دارا بودن خاصیت حشره‌کشی و همچنین توانمندی ایجاد تغییر در مسیر رشد طبیعی آفات توانسته‌اند به عنوان منابع جدید کنترل‌کننده آفات در مرکز توجه قرار گیرند (Schmelzet *al.*, 1999; Zolotaret *al.*, 2001; Marion-poll & Descoins, 2002). همچنین، به دلیل مشابه بودن ترکیبات اکدیستروئیدی با هورمون‌های حشرات، احتمال بروز مقاومت آفات به این نوع ترکیبات کاهش می‌یابد (Dinan & Sehnal, 1995; Salma & Lafont, 1995). بیش از ۳۰۰ نوع اکدیستروئید گیاهی وجود دارد که تقریباً در تمام قسمت‌های گیاه از قبیل ساقه، ریشه، برگ، گل و بذر پراکنده شده است (Dinan, 1992). از مهم‌ترین رایج‌ترین اکدیستروئیدهای گیاهی می‌توان به 20-Hydroxyecdysone، Polypodin-B و makisterone A اشاره کرد (Blackford *et al.*, 1996; Marion-poll & Descoins, 2002). اعتقاد بر این است که سرخسیان از جمله گیاهانی‌اند که مقادیر زیادی از ترکیبات اکدیستروئیدی دارند. از عصاره استخراج‌شده از برگ و ریزوم سرخس‌ها چندین ترکیب فعال اکدیستروئیدی از جمله 20-hydroxyecdysone و Polypodine-B گزارش شده است (Kubo *et al.*, 1983; Zolotar *et al.*, 2001). سرخس شترمرغی (*Matteuccia struthiopteris* (L.) (Onocleaceae) گیاهی بومی است که در نواحی شمالی ایران و در محل‌هایی از جمله سراسی‌بی صخره‌ها و رودخانه‌ها به‌طور طبیعی رشد می‌کند. در این پژوهش، از عصاره متانولی سرخس شترمرغی^۱ استفاده شد. تاکنون در ایران و دنیا در زمینه خاصیت حشره‌کشی این گیاه روی جمعیت آفات پژوهشی صورت نگرفته است. با توجه به ترکیبات مؤثر موجود در خانواده سرخسیان و همچنین جدید بودن اثر حشره‌کشی عصاره سرخس شترمرغی تأثیر عصاره این گیاه بر جمعیت شب‌پره پشته‌الماسی^۲

1. Ostrich fern
2. Diamond back moth

دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران واقع در محمدشهر کرج جمع‌آوری و پس از شناسایی و تأیید متخصصان حشره‌شناسی به آزمایشگاه منتقل گردید و از حشرات کامل حاصل برای ایجاد جمعیت آزمایشگاهی استفاده شد. از یک قفس پرورش پلاستیکی (قفس تخم‌ریزی) به ابعاد ۳۵×۳۵×۳۵ سانتی‌متر برای تولید انبوه تخم استفاده شد و در جداره قفس، توری تعبیه شده بود. به منظور تهیه یک توده هم‌سن تخم، ۲۰۰-۱۵۰ جفت حشرات کامل نر و ماده داخل قفس تخم‌ریزی رهاسازی شد. پس از ۱۰-۵ ساعت برگ‌ها از داخل قفس برداشته شد و تخم‌های گذاشته شده برای انجام آزمایش‌ها بررسی شد. این تخم‌ها از حشراتی بودند که دست کم سه نسل در آزمایشگاه پرورش یافته بودند.

آزمایش زیست‌سنجی

طی آزمایش مقدماتی، غلظت‌های مؤثر عصاره متانولی برای مرگ‌ومیر ۲۰ تا ۸۰ درصد جمعیت تحت آزمایش به دست آمد و سپس آزمایش اصلی انجام گرفت. آزمایش‌های زیست‌سنجی به روش فرو بردن برگ در محلول عصاره روی لارو سن سوم شب‌پره پشته‌الماسی انجام گرفت (Tabashnik & Slansky, 1987). هر برگ گیاه کلزا به عنوان سطح تغذیه حشرات به مدت ۳۰ ثانیه در ۵ میلی‌لیتر محلول غوطه‌ور و سپس ۲۰ دقیقه زیر هود گذاشته شد تا حلال تبخیر شود. لاروهای سن سوم شب‌پره پشته‌الماسی به مدت دو روز از غذای تیمار شده با عصاره متانولی برگ سرخس شترمرغی تغذیه کردند. سپس روی برگ‌های سالم تیمار نشده پرورش داده شدند. شفیره‌های تشکیل شده به صورت جداگانه به پتری‌دیش‌هایی به قطر ۸ سانتی‌متری منتقل شد. آزمایش تا خروج حشره کامل ادامه داشت. آزمایش در ۶ غلظت (۲، ۳، ۴، ۶، ۹ و ۱۳ درصد (وزن به حجم) و در ۴ تکرار و در شرایط دمایی 27 ± 1 درجه سلسیوس و رطوبت 65 ± 5 درصد و شرایط نوری ۸:۱۶ (روشنایی و تاریکی) بررسی شد. پروبیت مرگ‌ومیر حشرات کاملی که در مرحله لارو سن سوم به مدت ۴۸ ساعت از غذای حاوی عصاره تغذیه کرده بودند، با استفاده از نرم‌افزار SAS 6.12 و به روش Finney (1971) محاسبه شد و مقادیر LC_{25} و LC_{50} به دست آمد.

وجود هورمون فوق در عصاره متانولی سرخس شترمرغی تعیین شد (اطلاعات منتشر نشده). بنابراین تصمیم گرفته شد با انجام آزمایش‌های تکمیلی در مقیاس آزمایشگاهی، تأثیر غلظت‌های زیرکشنده عصاره متانولی حاوی ترکیبات اکدیستروئیدی بر پارامترهای دموگرافی شب‌پره پشته‌الماسی بررسی شود. نتایج می‌تواند به طراحی استراتژی‌های مناسب در کنترل تلفیقی شب‌پره پشته‌الماسی کمک شایانی کند.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری گیاه

در اردیبهشت‌ماه ۱۳۸۹ گیاه سرخس شترمرغی (*Matteuccia struthiopteris* (L.)) از شهرستان مرزن‌آباد با کمک متخصص گیاه‌شناسی (آقای دکتر مظفریان) در مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور جمع‌آوری گردید و پس از انتقال به آزمایشگاه در پاکت‌های کاغذی و در فریزر (دمای ۲۴- درجه سلسیوس) نگهداری شد.

استخراج عصاره

برای تهیه عصاره متانولی، به ۵۰ گرم از برگ‌های خردشده سرخس ۲۵۰ میلی‌لیتر متانول ۷۰ درصد اضافه شد. سپس به مدت ۳ ساعت در دمای ۵۵ درجه سلسیوس در حمام اولتراسونیک قرار گرفت. عصاره سرد شده در شیشه دربوش‌دار و در یخچال نگهداری شد. به مواد باقی‌مانده در لوله دو بار دیگر ۲۵۰ میلی‌لیتر متانول ۷۰ درصد اضافه شد و هر بار ۳ ساعت در دمای ۵۵ درجه سلسیوس قرار گرفت. عصاره متانولی حاصل به شیشه قبلی منتقل و در یخچال نگهداری شد. تغلیظ عصاره متانولی با دستگاه تقطیر در خلأ (روتاری) انجام گرفت. عملیات تغلیظ تا زمانی ادامه یافت که دیگر الکل از عصاره خارج نشد. از ۵۰ گرم برگ خردشده سرخس، ۴ میلی‌لیتر عصاره غلیظ‌شده استخراج شد.

پرورش حشره

پرورش و ایجاد جمعیت آزمایشگاهی شب‌پره پشته‌الماسی روی گیاه کلزا *Brassica napus* L. رقم Opera انجام گرفت. لارو و شفیره‌های شب‌پره پشته‌الماسی از مزارع کلم مرکز پژوهش‌های باغبانی

تعیین تأثیر غلظت‌های زیرکشنده روی پارامترهای دموگرافی

برای انجام آزمایش‌های دموگرافی شب‌پره پشته‌الماسی، غلظت‌های LC₅ (۰/۶۹ درصد)، LC₁₀ (۱/۰۹ درصد) و LC₂₅ (۲/۳۴ درصد) از عصاره متانولی سرخس شترمرغی تهیه شد. هر برگ گیاه کلزا به عنوان سطح تغذیه حشرات به مدت ۳۰ ثانیه در ۵ میلی‌لیتر محلول غوطه‌ور و سپس ۲۰ دقیقه زیر هود گذاشته شد تا حلال تبخیر شود. برای شروع آزمایش از لاروهای سن سوم شب‌پره پشته‌الماسی استفاده شد. قبل از شروع آزمایش، لاروها به مدت دو ساعت گرسنه نگه داشته شدند. لاروها دو روز از برگ‌های تیمار شده با عصاره متانولی تغذیه کردند و پس از این مدت، درصد تلفات دوره لاروی بررسی شد و لاروهای زنده‌مانده، از برگ‌های آلوده به برگ‌های سالم و غیرآلوده منتقل شدند و تا مرحله شفیره شدن میزان مرگومیر آنها بررسی شد. شفیره‌ها به پتری‌دیش منتقل شدند و تا زمان ظهور حشرات کامل میزان تلفات آنها محاسبه شد. در ادامه، آزمایش‌ها روی حشراتی دنبال شد که در نسل قبلی خود در مرحله لارو سن سوم به مدت ۴۸ ساعت از غلظت‌های مختلف عصاره تغذیه کرده بودند. برای انجام آزمایش‌های دموگرافیک، از ۱۲ جفت حشره کامل نر و ماده شب‌پره پشته‌الماسی که روی غلظت‌های مختلف عصاره متانولی پرورش یافته بودند، استفاده شد. هر جفت از این حشره‌ها به داخل ظروف جفت‌گیری منتقل شدند. ظروف جفت‌گیری هر ۲۴ ساعت بازدید شدند و هر روز یک برگ تازه درون ظرف‌ها قرار گرفت. آزمایش تا مرگ آخرین شب‌پره ادامه یافت. از اولین روز تا پایان عمر ماده‌ها تعداد تخم‌های گذاشته شده هر یک از حشرات تا آخرین روز ثبت شد. همچنین طول دوره پیش از تخم‌ریزی، تخم‌ریزی و پس از تخم‌ریزی حشرات بالغ در این مرحله برای همه حشرات بالغ محاسبه شد. لاروهای تازه‌خارج‌شده از تخم در نسل جدید به‌طور جداگانه روی برگ‌های تیمار نشده پرورش یافتند. آزمایش روزانه بررسی شد و برگ‌های تغذیه‌شده توسط لاروها در صورت لزوم، هر یک الی دو روز با برگ تازه تعویض شدند. از پوسته لاروی به‌جا مانده و رنگ کپسول سر برای تشخیص سنین مختلف لاروی استفاده شد. برای

هر غلظت ۱۰۰ لارو (تکرار) در نظر گرفته شد و مراحل مختلف رشدی لاروها به‌صورت روزانه تا پایان شفیرگی و تبدیل شدن به حشره کامل ثبت شد. آزمایش در شرایط دمایی 27 ± 1 درجه سلسیوس و رطوبت 65 ± 5 درصد و شرایط نوری ۸:۱۶ (روشنایی و تاریکی) انجام گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها و محاسبه پارامترها (مانند نرخ ناخالص باروری، نرخ ذاتی افزایش جمعیت، مدت زمان یک نسل، نرخ متناهی افزایش جمعیت) بر اساس روش Carey (1993) و برای اینکه پارامترهای تحت محاسبه از لحاظ آماری تکراردار شوند، از روش آماری Jackknife با نرم‌افزار SAS 6.12 استفاده شد (Maia et al., 2000).

نتایج

آزمایش زیست‌سنجی

در این پژوهش، غذای لاروهای سن سوم به مدت ۴۸ ساعت با غلظت‌های مختلف عصاره متانولی سرخس شترمرغی تیمار شد. پس از آن لاروها تا تبدیل شدن به شفیره و ظهور حشرات کامل روی غذای سالم نگهداری شدند. لذا مقادیر LC₂₅ و LC₅₀ بر اساس میزان مرگومیر در حشرات کامل به ترتیب ۲/۳۴ و ۵/۴۴ درصد (وزن به حجم) بود (جدول ۱). همچنین عصاره متانولی سرخس شترمرغی به دلیل خواص هورمونی در اندازه و شکل ظاهری حشرات کامل خارج‌شده تغییراتی ایجاد کرد (شکل ۱).

طول دوره رشدی در مراحل مختلف سنی شب‌پره پشته‌الماسی

طول مراحل مختلف رشدی شب‌پره پشته‌الماسی در جدول ۲ نشان داده شده است. بین غلظت‌های مختلف عصاره متانولی سرخس شترمرغی در طول دوره رشد و تکامل تخم اختلاف معناداری مشاهده شد ($F = 2.36; df = 3, P < 0.0001$). طول دوره رشد جنینی شب‌پره پشته‌الماسی در غلظت‌های مختلف عصاره متانولی سرخس شترمرغی بین ۲/۹۱ روز در غلظت ۰/۶۹ درصد تا ۳/۱۶ روز در غلظت ۲/۳۴ درصد متفاوت بود. مرحله لاروی در غلظت‌های مختلف عصاره متانولی سرخس شترمرغی دارای اختلاف معنادار بود ($F = 6.97; df = 3, 44; P < 0.0001$). با افزایش غلظت عصاره متانولی سرخس شترمرغی، دوره

لاروی طولانی‌تر شد و در غلظت ۲/۳۴ درصد به ۶/۷۵±۰/۱۶ روز افزایش یافت. دوره شفیرگی شب‌پره پشته‌الماسی تحت تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره متانولی سرخس متفاوت بود ($F=17.71$; $df = 3, 44$; $P < 0.0001$). طولانی‌ترین دوره شفیرگی در غلظت ۲/۳۴ درصد، ۵/۴۱±۰/۱۴ روز تعیین شد. این مقدار در شاهد ۴/۱۶±۰/۱۴ روز بود. طول دوره شفیرگی در غلظت ۰/۶۹ درصد و ۱/۰۹ درصد اختلاف معناداری مشاهده نشد.

جدول ۱. مقادیر LC_{50} و LC_{25} محاسبه‌شده عصاره متانولی سرخس شترمرغی روی لاروهای سن سوم شب‌پره پشته‌الماسی تغذیه کرده از عصاره

تعداد	χ^2 (df)	P-value	Intercept ±SE	Slope ± SE	LC_{25} (%w/v) (حدود اطمینان /۰.۹۵)	LC_{50} (%w/v) (حدود اطمینان /۰.۹۵)
۲۴۰	۱/۵۳ (۴)	۰/۸۲	۳/۶۵ ± ۰/۲۴	۱/۸۴ ± ۰/۳۱	۲/۳۴ (۱/۴۶-۳/۰۶)	۵/۴۴ (۴/۳۹-۶/۸۴)



(ب)



(الف)

شکل ۱. حشرات کامل شب‌پره پشته‌الماسی.

(الف شاهد؛ ب) حشرات کامل خارج‌شده توسط لاروهای سن سوم تغذیه‌کرده از عصاره ۱۳ درصد سرخس شترمرغی

جدول ۲. میانگین طول دوره رشدی (\pm خطای معیار) مراحل مختلف سنی شب‌پره پشته‌الماسی در غلظت‌های مختلف عصاره سرخس شترمرغی زمانی که لارو سن سوم در نسل قبل به مدت ۴۸ ساعت از عصاره تغذیه نمود

مراحل رشدی	شاهد	۰/۶۹	۱/۰۹	۲/۳۴
رشد جنینی (روز)	۲/۸۷±۰/۱۱ ^b	۲/۹۱±۰/۰۸ ^{ab}	۳/۰۸±۰/۰۸ ^{ab}	۳/۱۶±۰/۱۲ ^a
لارو (روز)	۵/۹۱±۰/۰۸ ^c	۶/۲۵±۰/۱۳ ^{bc}	۶/۵۸±۰/۱۹ ^{ab}	۶/۷۵±۰/۱۶ ^a
شفیره (روز)	۴/۱۶±۰/۱۱ ^c	۴/۲۵±۰/۱۳ ^c	۵/۰۰±۰/۱۷ ^b	۵/۴۱±۰/۱۴ ^a
مجموع (روز)	۱۲/۹۱±۰/۲۲ ^c	۱۳/۴۱±۰/۱۹ ^c	۱۴/۶۶±۰/۱۸ ^b	۱۵/۳۳±۰/۱۴ ^a

میانگین‌های با حروف غیرمشابه در هر ردیف بر اساس آزمون توکی در سطح ۵ درصد اختلاف معناداری دارند.

سرخس شترمرغی اختلاف معناداری مشاهده شد ($F=9.28$; $df = 3, 44$; $P < 0.0001$). میانگین طولانی‌ترین و کوتاه‌ترین طول عمر حشرات ماده به ترتیب در غلظت ۲/۳۴ درصد و ۰/۶۹ درصد به دست آمد. هم‌چنین بین طول عمر حشرات نر شب‌پره پشته‌الماسی اختلاف معناداری مشاهده شد ($F=14.34$; $df = 3, 44$; $P < 0.0001$). این نتایج تقریباً

مقادیر مربوط به طول عمر حشرات کامل نر و ماده و هم‌چنین دوره رشد و نمو مراحل پس از بلوغ شب‌پره پشته‌الماسی تحت تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره متانولی سرخس شترمرغی در جدول ۳ نشان داده شده است. بر اساس نتایج آزمایش، بین میانگین طول عمر حشرات ماده شب‌پره پشته‌الماسی در غلظت‌های مختلف عصاره متانولی

معناداری طولانی‌تر از غلظت ۰/۶۹ درصد بود. طول دوره تخم‌ریزی در غلظت‌های مختلف عصاره متانولی سرخس شترمرغی دارای اختلاف معنادار بود ($F=45.65$; $df=3$), بخش عمده تخم‌ریزی در اوایل زندگی حشرات کامل صورت گرفت. طول دوره تخم‌ریزی در غلظت ۲/۳۴ درصد پایین بود، اما در غلظت ۰/۶۹ درصد به حداکثر مقدار خود رسیده است. همچنین بین دو غلظت ۱/۰۹ درصد و ۲/۳۴ درصد اختلاف معناداری در طول دوره تخم‌ریزی مشاهده نشد. تغییرات و روند مشابهی برای دوره بعد از تخم‌ریزی مشاهده شد. طول دوره بعد از تخم‌ریزی در غلظت‌های مختلف عصاره متانولی سرخس شترمرغی اختلاف معناداری نشان نداد.

مشابه نتایج مربوط به طول عمر حشرات ماده بود. به نحوی که طولانی‌ترین طول عمر در غلظت ۲/۳۴ درصد با میانگین $۸/۰۲ \pm ۰/۱۳$ روز و کوتاه‌ترین طول عمر در غلظت ۰/۶۹ درصد با میانگین $۷/۲۲ \pm ۰/۱۲$ روز تعیین شد. در همه غلظت‌های تحت مطالعه، حشرات کامل شب‌پره پشت‌الماسی بعد از خارج شدن از مرحله شفیرگی شروع به جفت‌گیری و تخم‌ریزی می‌کنند. همان‌گونه که در جدول ۳ دیده می‌شود، طول دوره قبل از تخم‌ریزی در غلظت‌های مختلف عصاره متانولی سرخس شترمرغی اختلاف معناداری داشت ($F=11.31$; $df=3, 44$; $P<0.0001$). در اکثر غلظت‌ها طول دوره قبل از تخم‌ریزی بسیار کوتاه بود. این دوره در دو غلظت ۱/۰۹ درصد و ۲/۳۴ درصد به‌طور

جدول ۳. میانگین‌های دوره رشد و نمو مراحل پس از بلوغ (\pm خطای معیار) شب‌پره پشت‌الماسی در غلظت‌های مختلف عصاره سرخس شترمرغی زمانی که لارو سن سوم در نسل قبل به مدت ۴۸ ساعت از عصاره تغذیه نمود

مراحل رشدی	غلظت (درصد)			شاهد
	۲/۳۴	۱/۰۹	۰/۶۹	
طول عمر حشرات نر (روز)	$۸/۰۲ \pm ۰/۱۳^a$	$۷/۷۵ \pm ۰/۱۵^{ab}$	$۷/۲۲ \pm ۰/۱۲^{ab}$	$۶/۸۵ \pm ۰/۱۶^b$
طول عمر حشرات ماده (روز)	$۹/۲۰ \pm ۰/۲۱^a$	$۸/۸۴ \pm ۰/۱۸^{ab}$	$۸/۷۶ \pm ۰/۱۵^{ab}$	$۸/۲۵ \pm ۰/۱۲^b$
دوره قبل از تخم‌ریزی (روز)	$۱/۵۸ \pm ۰/۱۹^a$	$۱/۴۱ \pm ۰/۱۶^a$	$۰/۶۶ \pm ۰/۱۴^b$	$۰/۵۰ \pm ۰/۱۵^b$
دوره تخم‌ریزی (روز)	$۳/۱۶ \pm ۰/۲۴^c$	$۳/۵۰ \pm ۰/۱۵^c$	$۴/۶۶ \pm ۰/۱۸^b$	$۵/۸۳ \pm ۰/۱۱^a$
دوره بعد از تخم‌ریزی (روز)	$۶/۰۰ \pm ۰/۴۹^a$	$۶/۴۱ \pm ۰/۵۱^a$	$۵/۵۰ \pm ۰/۴۸^a$	$۲/۸۲ \pm ۰/۲۹^b$

میانگین‌های با حروف غیرمشابه در هر ردیف بر اساس آزمون توکی در سطح ۵ درصد اختلاف معناداری دارند.

۳/۷۶ \pm ۰/۳۹ تعیین شد. بین نرخ خالص باروری این شب‌پره در غلظت‌های مختلف عصاره متانولی سرخس شترمرغی اختلاف معناداری مشاهده شد ($F=1.26$; $df=3$), بین میزان نرخ خالص بارآوری شب‌پره پشت‌الماسی در غلظت‌های مختلف عصاره متانولی اختلاف معناداری وجود داشت ($F=771.04$; $df=3, 44$), کمترین و بیشترین نرخ خالص بارآوری به ترتیب در غلظت ۲/۳۴ درصد و ۱/۰۹ درصد تعیین شد. طبق بررسی‌های انجام‌گرفته بین میزان تخم‌ریزی به ازای هر فرد ماده در غلظت‌های مختلف عصاره متانولی سرخس شترمرغی اختلاف معناداری مشاهده شد ($F=140.36$; $df=$), بیشترین میزان تخم‌ریزی به ازای هر فرد ماده در طول عمر در غلظت ۰/۶۹ درصد مشاهده شد. غلظت عصاره متانولی سرخس شترمرغی یکی از عوامل مهم در تخم‌ریزی است و افزایش غلظت عصاره متانولی سبب کاهش تخم‌ریزی شد.

پارامترهای تولیدمثلی شب‌پره پشت‌الماسی

نرخ ناخالص و خالص باروری شب‌پره پشت‌الماسی تحت تأثیر غلظت‌های مختلف تحت آزمون قرار گرفت (جدول ۴). غلظت دارای تأثیر معنادار روی نرخ ناخالص باروری شب‌پره پشت‌الماسی بود ($F=137.46$; $df=3$), بیشترین نرخ ناخالص باروری در غلظت ۰/۶۹ درصد بود. بین میزان نرخ ناخالص باروری در دو غلظت ۱/۰۹ درصد و ۲/۳۴ اختلاف معناداری مشاهده نشد. نرخ خالص باروری عبارت است از متوسط تعداد تخم‌های یک حشره ماده در طول عمر با در نظر گرفتن احتمال بقای آن فرد و نرخ خالص بارآوری عبارت از متوسط تعداد تخم‌های تفریخ‌شده از مجموع تخم‌های تولیدشده یک فرد با در نظر گرفتن احتمال بقای آن فرد در طول عمر است. نرخ خالص باروری شب‌پره پشت‌الماسی در غلظت‌های ۰/۶۹ درصد، ۱/۰۹ درصد و ۲/۳۴ درصد به ترتیب $۲۴/۳۸ \pm ۱/۰۸$ ، $۵/۸۵ \pm ۰/۸۴$ و

جدول ۴. میانگین پارامترهای تولیدمثل (\pm خطای معیار) شب‌پره پشته‌الماسی در غلظت‌های مختلف عصاره متانولی سرخس شترمرغی زمانی که لارو سن سوم در نسل قبل به مدت ۴۸ ساعت از عصاره تغذیه نمود

پارامتر	غلظت (درصد)		
	شاهد	۰/۶۹	۱/۰۹
نرخ ناخالص باروری ^۱ (تخم)	۷۱/۱۷±۱/۱۷ ^a	۶۰/۹۶±۲/۷۱ ^b	۲۱/۶۷±۱/۱۳ ^c
نرخ ناخالص بارآوری ^۲ (تخم)	۶۹/۷۴±۱/۴۳ ^a	۵۹/۱۳±۲/۶۳ ^b	۲۰/۸۰±۱/۰۱ ^c
نرخ خالص باروری ^۳ (تخم)	۵۸/۹۷±۰/۱۱ ^a	۲۴/۳۸±۱/۰۸ ^b	۵/۸۵±۰/۸۴ ^c
نرخ خالص بارآوری ^۴ (تخم)	۵۸/۱۲±۱/۱۹ ^a	۲۳/۶۵±۱/۰۵ ^b	۵/۶۱±۰/۸۱ ^c
میانگین تخم در روز ^۵ (تخم/فرد)	۱۱/۶±۱/۲۸ ^a	۱۰/۰۷±۱/۳۶ ^b	۶/۳۵±۰/۳۵ ^c

میانگین‌های با حروف غیرمشابه در هر ردیف بر اساس آزمون توکی در سطح ۵ درصد اختلاف معنادار دارند.

1. Gross fecundity rate, 2. Gross fertility rate, 3. Net fecundity rate, 4. Net fertility rate, 5. Mean eggs per day

پارامتر رشد جمعیت شب‌پره پشته‌الماسی

پارامترهای رشد جمعیت شب‌پره پشته‌الماسی در غلظت‌های مختلف عصاره متانولی سرخس شترمرغی در جدول ۵ نشان داده شده است. بالاترین و پایین‌ترین مقدار نرخ خالص تولیدمثل (R_0) به ترتیب در غلظت‌های ۰/۶۹ درصد و ۲/۳۴ درصد برابر با ۱۹/۷۷±۰/۸۱ و ۱/۹۲±۰/۲۰ (ماده/ ماده/ نسل) به دست آمد. بنابراین طبق این یافته‌ها می‌توان نتیجه گرفت بین نرخ خالص تولیدمثل در غلظت‌های مختلف عصاره متانولی سرخس شترمرغی اختلاف معناداری وجود دارد ($F=1.11$; $df = 3, 44$; $P<0.0001$). بیشترین مقدار تولیدمثل در شب‌پره پشته‌الماسی در غلظت ۰/۶۹ درصد است. بین میزان نرخ ذاتی افزایش جمعیت شب‌پره پشته‌الماسی در غلظت‌های مختلف عصاره متانولی سرخس شترمرغی اختلاف معناداری مشاهده شد ($F=568.68$; $df=3, 44$; $P<0.0001$). تعداد ماده‌های اضافه‌شده به جمعیت شب‌پره پشته‌الماسی در هر روز (r_m) در غلظت ۲/۳۴ درصد کمترین و در غلظت ۰/۶۹ درصد بیشترین بود. نرخ متناهی افزایش جمعیت شب‌پره پشته‌الماسی نشانگر مقداری است که به آن میزان

جمعیت پایدار هر روز نسبت به روز قبل افزایش خواهد یافت. نرخ متناهی افزایش جمعیت به طور معناداری تحت تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره متانولی سرخس شترمرغی قرار گرفت ($F=672.38$; $df = 3, 44$; $P<0.0001$). مقدار این پارامتر در نمونه‌های تیمار شده در مقایسه با شاهد کاهش یافت. از نظر نرخ متناهی افزایش جمعیت (λ) شب‌پره پشته‌الماسی در غلظت ۰/۶۹ درصد هر روز نسبت به روز قبل ۱/۲۱ برابر شد. میانگین زمان نسل در شب‌پره پشته‌الماسی تحت تأثیر غلظت قرار گرفت ($F=8.49$; $df = 3, 44$; $P<0.0001$). افزایش غلظت از ۰/۶۹ درصد به ۲/۳۴ درصد سبب طولانی شدن زمان نسل در شب‌پره پشته‌الماسی شد. زمان دو برابر شدن جمعیت شب‌پره پشته‌الماسی با افزایش غلظت از ۰/۶۹ درصد به ۲/۳۴ درصد روند افزایشی نشان داد. حداقل و حداکثر زمان دو برابر شدن جمعیت به ترتیب در غلظت ۰/۶۹ درصد و غلظت ۲/۳۴ درصد مشاهده گردید. این نتیجه بیانگر این است که میزان افزایش جمعیت در غلظت ۲/۳۴ درصد کمتر بوده است. بنابراین زمان بیشتری برای دو برابر شدن جمعیت مورد نیاز است.

جدول ۵. میانگین پارامترهای رشد جمعیت (\pm خطای معیار) شب‌پره پشته‌الماسی در غلظت‌های مختلف عصاره متانولی سرخس شترمرغی زمانی که لارو سن سوم در نسل قبل به مدت ۴۸ ساعت از عصاره تغذیه نمود

پارامتر	غلظت (درصد)		
	شاهد	۰/۶۹	۱/۰۹
نرخ خالص تولیدمثل ^۱ (ماده/ ماده/ نسل)	۵۰/۴۰±۱/۰۳ ^a	۱۹/۷۷±۰/۸۱ ^b	۳/۰۵±۰/۰۳ ^c
نرخ ذاتی افزایش جمعیت ^۲ (ماده/ ماده/ روز)	۰/۲۶±۰/۰۰۱ ^a	۰/۱۹±۰/۰۰۲ ^b	۰/۰۷±۰/۰۰۰ ^c
نرخ متناهی افزایش جمعیت ^۳	۱/۳۰±۰/۰۲ ^a	۱/۲۱±۰/۰۶ ^b	۱/۰۷±۰/۰۵ ^c
میانگین زمان نسل ^۴ (روز)	۱۴/۶۹±۰/۰۱ ^c	۱۴/۶۹±۰/۰۷ ^c	۱۵/۲۱±۰/۰۲ ^b
مدت زمان دو برابر شدن ^۵ (روز)	۲/۵۹±۰/۰۱ ^c	۳/۵۳±۰/۰۲ ^c	۹/۱۳±۰/۰۶ ^b

میانگین‌های با حروف غیرمشابه در هر ردیف بر اساس آزمون توکی در سطح ۵ درصد اختلاف معنادار دارند.

1. R_0 : Net reproduction rate, 2. r_m : Intrinsic rate of increase, 3. λ : Finite rate of increase, 4. T : Mean generation time, 5. DT : Doubling time

بحث

تاکنون گزارشی مبنی بر سمیت گوارشی عصاره متانولی سرخس شترمرغی روی آفات گزارش نشده است؛ ولی پژوهش‌های بسیاری درباره کاربرد عصاره و ترکیبات اکدیستروئیدی در رژیم غذایی برخی آفات وجود دارد. طی بررسی‌های محققان مشخص شد که وجود ترکیبات اکدیستروئیدی از جمله 20-hydroxyecdysone، Ponasteron و Polygodin-B در رژیم غذایی حشرات سبب اختلال در روند مراحل رشدی لاروی و شفیرگی و باعث افزایش مرگ‌ومیر می‌گردد (Kubo *et al.*, 1983; Blackford & Dinan, 1997; Rharrabe *et al.*, 2009). نتایج مشابه در حشراتی مانند *Plodia interpunctella* Hubner (Lepidoptera: Pyralidae) (Rharrabe *et al.*, 2009) و *Acrolepiopsis assectella* Zeller (Arnault & Slama, 1986) که از برخی گیاهان، یا عصاره حاوی ترکیبات اکدیستروئیدی تغذیه کرده‌اند نیز مشاهده شده است. Liang *et al.* (2003) اثر ترکیبات Agroneem، Neemix و Ecozin را روی لاروهای شب‌پره پشته‌الماسی بررسی کردند. افزایش مدت زمان قرار گرفتن در معرض این ترکیبات، سبب کاهش تعداد شفیره و حشرات کامل شب‌پره پشته‌الماسی شد. نتایج پژوهش حاضر با نتایج ذکرشده در سال ۲۰۰۳ مطابقت دارد. نتایج پژوهش فوق بیان می‌کند که در ۲۴ و ۴۸ ساعت اول تغذیه از عصاره متانولی سرخس شترمرغی روی لاروهای سن سوم، اثر قابل ملاحظه‌ای از لحاظ شکل ظاهری و مرگ‌ومیر نداشته است. افزایش مدت زمان قرار گرفتن در برابر عصاره متانولی سبب افزایش مرگ‌ومیر در جمعیت تحت آزمایش شد. در مرحله شفیرگی بیشترین تلفات مشاهده شد. شفیره‌هایی که در مرحله لارو سن سوم با غلظت‌های بالای عصاره متانولی سرخس شترمرغی تیمار شده بودند، تفاوت‌های بسیار بارزی با نمونه‌های شاهد داشتند. شفیره‌ها نسبت به نمونه‌های شاهد از لحاظ اندازه کوچک‌تر بودند و به واسطه تغییر رنگ به آسانی از شفیره‌های شاهد قابل تشخیص بودند. تغییرات بارزی در شکل و اندازه حشرات خارج‌شده از لاروهایی که با غلظت بالا (۱۳ درصد) در عصاره متانولی سرخس شترمرغی تیمار شده بودند، دیده شد. بدشکلی و کاهش اندازه در حشرات کامل خارج‌شده بسیار مشهود

بود. نکته مهمی که باید به آن اشاره کرد این است که از لحاظ باروری و بارآوری حشرات کامل بدشکل نسبت به حشرات کامل سالم در همان غلظت بسیار تفاوت وجود داشت. تخم‌ریزی در حشرات بدشکل ۴۸ ساعت پس از جفت‌گیری انجام گرفت و از طرفی نرخ تفریح تخم و خروج لارو سن اول بسیار پایین بود. این نتایج حساسیت لارو شب‌پره پشته‌الماسی به عصاره متانولی سرخس شترمرغی را نشان می‌دهد.

یکی از اهداف تحقیق حاضر بررسی تأثیر غلظت‌های زیرکشنده عصاره متانولی بر پارامترهای دموگرافی شب‌پره پشته‌الماسی است. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که افزایش غلظت عصاره متانولی سبب طولانی‌تر شدن دوره لاروی و شفیرگی در شب‌پره پشته‌الماسی می‌گردد. به نظر می‌رسد نامطلوب بودن مواد غذایی سبب کاهش وزن گردیده است. بنابراین به نظر می‌رسد حشرات به دلیل کوچک ماندن به وزن بحرانی مورد نیاز نرسیده‌اند و همین عامل سبب طولانی شدن این دوره شده است. نتایج این پژوهش با یافته‌های Rharrabe *et al.* (2010) که کوتاه شدن طول دوره رشدی شب‌پره هندی (*Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) در اثر تغذیه از ترکیب اکدیستروئیدی 20-hydroxyecdysone را ثبت کردند، مطابقت ندارد. احتمالاً به نظر می‌رسد که وجود ترکیبات فراوان دیگری در عصاره متانولی سرخس تحت آزمایش، مانع از تأثیر قاطع ترکیبات اکدیستروئیدی بر طول دوره رشدی شب‌پره پشته‌الماسی شده است. بنابراین موضوع فوق بسیار جالب است و به پژوهش‌های بیشتری برای بررسی ترکیبات موجود در عصاره فوق احتیاج دارد.

در ادامه آزمایش‌های این پژوهش، نتایج نشان می‌دهد که استفاده از غلظت‌های مختلف عصاره متانولی سرخس شترمرغی، باروری و بارآوری شب‌پره تحت آزمایش را به شدت کاهش داده است. این احتمال وجود دارد که استفاده از عصاره متانولی سرخس شترمرغی در مرحله لاروی سبب ضعیف شدن حشرات کامل و اتمام ذخایر تخم گردیده و میزان تخم‌ریزی را به شدت کاهش داده است. Sota *et al.* (1998) و Fujiwara *et al.* (2002)، گزارش دادند که نرخ خالص باروری در لاروهای شب‌پره پشته‌الماسی که با fenvalerate تیمار شده

زیادی روی آفات از جمله شب‌پره پشته‌ماسی ایجاد می‌کند و قادر است جمعیت را در نسل‌های بعد به‌طور شایان توجهی کاهش دهد. بنابراین لازم است با شناسایی ترکیبات مؤثر، انجام آزمایش‌های متعدد و همچنین با تهیه فرمولاسیون‌های مناسب در صورت اثبات کارایی، امکان استفاده از این ترکیب را در شرایط گلخانه‌ای و مزرعه‌ای فراهم آورد.

بودند، افزایش می‌یابد. نتایج پژوهش حاضر با گزارش‌های ذکرشده مطابقت ندارد. تفاوت در نتیجه ذکرشده ممکن است به دلیل تغییر در غذای به‌کار رفته در مرحله لاروی قابل توجه باشد (Hamilton *et al.*, 2005).

از نتایج این پژوهش می‌توان چنین استنباط کرد که سرخس شترمرغی از جمله گیاهانی است که سمیت

REFERENCES

1. Arnault, C. & Slama, K. (1986). Dietary effects of phytoecdysone in the leek-moth, *Acrolepiopsis assectella* Zell. (Lepidoptera: Acrolepiidae). *Journal of Chemical Ecology*, 12, 1979-1986.
2. Blackford, M., Clarke, B. & Dinan, L. (1996). Tolerance of the Egyptian cotton leafworm *Spodoptera littoralis* to ingested phytoecdysteroids. *Journal of Insect Physiology*, 42, 931-936.
3. Blackford, M. & Dinan, L. (1997). The effect of ingested ecdysteroid agonists (20-hydroxyecdysone, RH5849 and RH5992) and an ecdysteroid antagonist (Cucurbitacin B) on larval development of two polyphagous lepidopterans (*Acherontia atropos* and *Lacanobia oleracea*). *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 83, 263-276.
4. Carey, J.R. (1993). Applied demography for biologists with special emphasis on insect. Oxford University Press, New York. 211 pp.
5. Dinan, L. (1992). The analysis of phytoecdysteroids in single (pre flowering stage) specimens of fat hen, *Chenopodium album*. *Phytochemical Analysis*, 3 (3), 132-138.
6. Dinan, L. (2001). Phytoecdysteroids: Biological aspect. *Phytochemistry*, 57, 325-339.
7. Dinan, L. & Sehnal, F. (1995). A strategy for the identification of ecdysteroid receptor agonists and antagonists from plants. *European Journal of Entomology*, 92 (1), 271-283.
8. Eziah, V. Y., Rose, H. A., Clift, A. D. & Mansfield, S. (2008). Susceptibility of four field populations of the diamondback moth *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae) to six insecticides in the Sydney region, New South Wales. *Australian Journal of Entomology*, 47, 355-360.
9. Finney, D. J. (1971). Probit Analysis, 3rd Edition. Cambridge University, London. 333 pp.
10. Fujiwara, Y., Takahashi, T., Yoshioka, T. & Nakasuji, F. (2002). Changes in egg size of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) treated with fenvalerate at sublethal doses and viability of the eggs. *Applied Entomology and Zoology*, 37, 103-109.
11. Haseeb, M., Kobori, Y., Amino, H. & Nemoto, H. (2002). Population density of *Plutella xylostella* and its parasitoid *Cotesia plutellae* on two varieties of cabbage in an urban environment. *Applied Entomology and Zoology*, 36, 353-360.
12. Hamilton, A. J., Endersby, N. M., Ridland, P. M., Zhang, J. & Neal, M. (2005). Effects of cultivar on oviposition preference, larval feeding and development time of diamondback moth, *Plutella xylostella* on some *Brassica oleracea* vegetables in Victoria. *Australian Journal of Entomology*, 44, 284-287.
13. Kubo, I., Klocke, J. A. & Asano, S. (1983). Effects of ingested phytoecdysteroids on the growth and development of two lepidopterous larvae. *Journal of Insect Physiology*, 29, 307-316.
14. Lafont, R. (1997). Ecdysteroids and related molecules in animals and plants. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 35, 3-20.
15. Liang, G., Chen, W. & Liu, T. (2003). Effects of three neem-based insecticides on diamondback moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: plutellidae). *Crop Protection*, 22, 333-340.
16. Mahmoudvand, M., Abbasipour, H., Sheikhi Garjan, A. and Bandani, A. R. (2011). Sublethal effects of indoxacarb on the diamondback moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). *Applied Entomology and Zoology*, 46, 75-80.
17. Malausa, T., Salles, M., Marquet, V., Guillemaud, T., Alla, S., Marion-Poll, F. & Lapchin, L. (2006). Within-species variability of the response to 20-hydroxyecdysone in peach-potato aphid (*Myzus persicae* Sulzer). *Journal of Insect Physiology*, 52 (5), 480-486.
18. Marion-Poll, F. & Descoins, C. (2002). Taste detection of phytoecdysteroids in larvae of *Bombyx mori*, *Spodoptera littoralis* and *Ostrinia nubilalis*. *Journal of Insect Physiology*, 48, 467-476.
19. Maia, A. D. H., Luiz, A. J. & Campanhola, C. (2000). Statistical inference on associated fertility life table parameters using jackknife technique: Computational aspects. *Journal of Economic Entomology*, 93, 511-518.
20. Rharrabe, K., Bouayad, N. & Sayah, F. (2009). Effects of ingested 20-hydroxyecdysone on development and midgut epithelial cells of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 93, 112-119.

21. Rharrabe, K., Sayeh, F. & Lafont, R. (2010). Dietary effect of four phytoecdysteroids on growth and development of the Indian meal moth, *Plodia interpunctella*. *Journal of Insect Science*, 10(13), 1-12.
22. Slama, K. & Lafont, R. (1995). Insect hormones-ecdysteroids: their presence and actions in vertebrates. *European Journal of Entomology*, 92, 355-377.
23. Sayyed, A. H., Attique, N. M. R., Khaliq, A. & Wright D. J. (2005). Inheritance of resistance and cross-resistance to deltamethrin in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) from Pakistan. *Pest Management Science*, 61, 636-642.
24. Schmelz, E. A., Grebenok, R. J., Galbraith, D. W. & Bowers, W. S. (1999). Insect-induced synthesis of phytoecdysteroids in spinach, *Spinacia oleracea*. *Journal of Chemical Ecology*, 25, 1739-1757.
25. Sota, N., Motoyama, N., Fujisaki, K. & Nakasuji, F. (1998). Possible amplification of insecticide hormoligosis from resistance in the *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). *Applied Entomology and Zoology*, 33, 435-440.
26. Tabashnik, B. E. & Slansky, F. J. (1987). Nutritional ecology of forb foliage-chewing insects. In: Nutritional ecology of insects, mites, spiders, and related invertebrates, eds. Slansky, F. Jr. and Rodriguez, J. G., pp. 71-103. Wiley, New York.
27. Yin, X. H., Wu, Q. J., Li, X. F., Zhang, Y. J. & Xu, B. Y. (2008). Sublethal effects of spinosad on *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). *Crop Protection*, 27, 1385-1391.
28. Zolotar, R. M., Bykhovets, A. I. & Kovganko, N. V. (2001). Effect of certain phytoecdysteroids on larvae of *Leptinotarsa decemlineata*. *Chemistry of Natural Compounds* 37, 537-540.