Iranian Journal of Plant Protection Science
Vol 48, No 1, Spring & Summer 2017 (109-118)
DOI: 10.22059/ijpps.2017.226533.1006760

دانش گیاهپزشکی ایران
دورهٔ ۴۸، شمارهٔ ۱، بهار و تابستان ۱۳۹۶ (ص ۱۱۸-۱۰۹)

تأثیر رقم‌های مختلف سیب‌زمینی روی شاخص‌های تغذیه‌ای و فعالیت برخی از آنزیم‌های گوارشی سوسک کلرادوی سیب‌زمینی *Leptinotarsa decemlineata* (Col.: Chrysomelidae)

قدیر نوری قنبلانی[1*]، احسان برزویی[2]، علیرضا نوری[3] و پژمان تاج‌میری[2]
۱ و ۲. استاد و دانشجوی دکتری گروه گیاه‌پزشکی، دانشکدهٔ کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۳. دانشجوی دکتری، دانشکدهٔ کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۱۲ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۵/۱۴)

چکیده

شاخص‌های تغذیه‌ای و فعالیت آنزیم‌های گوارشی *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Col.: Chrysomelidae) روی هشت رقم سیب‌زمینی شامل آگریا، دای‌فلا، کایزر، لابادیا، لیدی‌روزتا، لوتا، مارفونا و سانته در شرایط آزمایشگاهی ۱±۲۵ درجهٔ سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد و دورهٔ نوری ۱۶:۸ (روشنایی: تاریکی) بررسی شد. لاروهای سن سوم پرورش داده‌شده روی رقم کایزر پایین‌ترین میزان غذای خورده‌شده و وزن به‌دست‌آمدهٔ لاروی را داشتند. بالاترین و پایین‌ترین میزان قابلیت هضم تقریبی به‌ترتیب روی رقم‌های آگریا و مارفونا بود. لاروهای پرورش‌یافته روی رقم سانته بالاترین کارایی غذای خورده‌شده و بالاترین کارایی غذای هضم‌شده را داشتند. لاروهایی که روی رقم آگریا تغذیه شدند، بیشترین نرخ مصرف نسبی را داشتند. در مقابل، لاروهای تغذیه‌کرده از رقم‌های لابادیا و کایزر پایین‌ترین نرخ مصرف نسبی را داشتند. لاروهای تغذیه‌کرده از رقم‌های سانته و آگریا بالاترین نرخ رشد نسبی را داشتند. کمترین فعالیت آلفا-آمیلاز در لاروهای سن چهارم روی رقم‌های کایزر و لابادیا و بیشترین آن در لاروهای تغذیه‌کرده از رقم‌های لوتا و سانته مشاهده شد. بالاترین فعالیت پروتئین‌شکنی (پروتئولیتیک) لاروی روی رقم‌های آگریا، سانته و لوتا ثبت شد. بنا بر نتایج به‌دست‌آمدهٔ رقم‌های لابادیا و کایزر نامناسب‌ترین رقم‌های برای تغذیهٔ سوسک کلرادو هستند. رقم‌های مقاوم می‌تواند برای کشت در نواحی که آسیب سوسک کلرادوی سیب‌زمینی زیاد است توصیه شود و به این وسیله از آسیب آفت جلوگیری کرد و یا دست‌کم آسیب آن را کاهش داد.

واژه‌های کلیدی: سوسک کلرادوی سیب‌زمینی، شاخص‌های تغذیه‌ای، فعالیت آمیلولیتیک، فعالیت پروتئین‌شکنی.

Effect of different potato cultivars on nutritional indices and activity of some digestive enzymes of *Leptinotarsa decemlineata* (Col.: Chrysomelidae)

Gadir Nouri-Ganbalani [1*], Ehsan Borzoui [2], Alireza Nouri[3] and Pejman Tajmiri[2]
1, 2. Professor and Ph.D. Candidate of Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture and natural science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
3. Ph.D. Candidate of Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture and Natural Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
(Received: Jan. 31, 2017 - Accepted: Aug. 5, 2017)

ABSTRACT

Nutritional indices and digestive enzymatic activity of *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae) was studied on eight potato cultivars including Agria, Dayfla, Ceasar, Labadia, Lady Rozeta, Lotta, Marfona, and Santae under laboratory conditions (25±1 °C, 65±5% R.H. and a photoperiod of 16L:8D h). *L. decemlineata* third instar larvae reared on cultivar Ceasar had the lowest values of consumed food and larval weight gain. Approximate digestibility values were highest and lowest on cultivars Agria and Marfona, respectively. The larvae reared on cultivar Santae showed the highest efficiency of conversion of digested food and efficiency of conversion of ingested food. Those larvae that fed on cultivar Agria had the highest relative consumption rate. In contrast, the larvae fed on Labadia and Ceasar cultivars had the lowest relative consumption rate. Furthermore, the larvae fed on Santae and Agria cultivars had the highest relative growth rate. Amylolytic activity in the 4th instar larvae was the lowest on Ceasar and Labadia and the highest activity was observed in the larvae fed on cultivars Lotta and Santae. The highest larval proteolytic activity was recorded in Agria, Santae and Lotta cultivars. According to the results, Labadia and Ceasar were the most unsuitable cultivars for feeding of *L. decemlineata*.

Keywords: Amylolytic activity, Colorado potato beetle, nutritional indices, proteolytic activity.

* Corresponding author E-mail: gnouri@uma.ac.ir

مقدمه

سیب‌زمینی پس از گندم، برنج و ذرت چهارمین محصول زراعی اصلی جهان است (Rezaei & Soltani, 2001). یکی از مهم‌ترین حشرات زیان‌آور این محصول سوسک کلرادوی سیب‌زمینی، *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Col.: Chrysomelidae)، است که آسیب قابل توجهی را به آن وارد می‌سازد. موطن اصلی این آفت کشور آمریکا است. این آفت از آمریکا به آلمان و روسیه، سپس به بیشتر نقاط جهان و در سال ۱۳۶۳ به ایران انتقال یافته است (Nouri-Ganbalani, 1985). سوسک کلرادوی سیب‌زمینی حشره‌ای الیگوفاژ است که از گیاهان تیرهٔ Solanaceae تغذیه می‌کند. این حشره در درجهٔ اول آفت سیب‌زمینی است، ولی به گیاهان زراعی دیگری مانند بادمجان و گوجه‌فرنگی نیز آسیب می‌زند. مرحلهٔ لاروی و حشرهٔ کامل این آفت از برگ گیاهان میزبان تغذیه کرده، با از بین بردن شاخ و برگ سبب کاهش عملکرد می‌شود (Pedigo & Rice, 2009). امروزه استفاده از سموم شیمیایی متداول‌ترین روش کنترل سوسک کلرادوی سیب‌زمینی است. کاربرد مداوم حشره‌کش‌های شیمیایی ضمن ایجاد جمعیت‌های مقاوم آفت، اثر جانبی چندی روی محیط‌زیست و موجودهای زندهٔ غیرهدف داشته است (Tisler & Zehnder, 1990). بنابراین، در سال‌های گذشته پژوهش‌های چندی برای استفاده از روش‌های غیرشیمیایی، از جمله رقم‌های مقاوم، برای کاهش آسیب سوسک کلرادوی سیب‌زمینی انجام گرفته است.

بر پایهٔ تعریف Painter (1951)، رقم مقاوم رقمی است که در شرایط محیطی یکسان و به‌طور ژنتیکی در مقایسه با رقم‌های معمولی کمتر مورد آسیب آفت قرار گیرد و محصولی بیشتر و با کیفیت بالاتر تولید کند. بنابراین، مقاومت امری نسبی است و در مقایسه با دیگر رقم‌ها ارزیابی می‌شود (Smith *et al*., 1994). استفاده از رقم‌های مقاوم به آفات یکی از راه‌های کنترل زراعی است که در مدیریت تلفیقی آفات (IPM) همراه با دیگر روش‌های کنترل آفت استفاده می‌شوند. رقم‌های مقاوم می‌توانند با کاهش بقای مراحل مختلف سنی، اندازه و وزن بدن، طول عمر حشرات کامل و تولیدمثل حشرات نسل بعد یا به‌صورت غیرمستقیم از راه افزایش احتمال قرارگیری حشرات در معرض دشمنان طبیعی با طولانی‌تر کردن مراحل رشدی پیش از بلوغ، نقش مؤثری در کنترل حشرات آفت داشته باشند (Dent, 2000; Sarfraz *et al*., 2006). استفاده از رقم‌های مقاوم موجب کاهش فشار انتخابی واردشده توسط حشره‌کش‌ها روی حشرات آفت و کاهش احتمال بروز مقاومت در آن‌ها نسبت به سموم شیمیایی می‌شود (Panda & Khush, 1995).

یکی از روش‌های ارزیابی مقاومت گیاهان میزبان، بررسی شاخص‌های تغذیه‌ای حشره روی رقم‌های مختلف است (Haynes & Millar, 1998; Patankar *et al*., 2001). سخت‌بالپوشان در برابر رژیم‌های غذایی نامناسب و نامتعادل از نظر مواد غذایی و متابولیت‌های ثانویه به شیوه‌های مختلف واکنش نشان می‌دهند. به‌طور مثال می‌توانند میزان یا نوع غذای خورده‌شده و یا کارایی استفاده از مواد غذایی خورده‌شده را با تغییر در فعالیت آنزیم‌های گوارشی، تغییر دهند (Chapman, 1998; Nation, 2001). نوع و میزان عنصرهای غذایی گیاه، ترکیب‌های شیمیایی ثانویهٔ گیاه و توانایی هضم و جذب غذای خورده‌شده توسط حشره از جمله عامل‌هایی هستند که مطلوبیت گیاه میزبان برای تغذیه، رشد و نمو و ایجاد جمعیت نسل بعد توسط حشرهٔ آفت را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Scriber & Slansky, 1981). تفاوت در میزان آللوشیمی (کمیکال)های رقم‌های مختلف گیاه میزبان (Martin & Pulin, 2004) و توانایی حشره در هضم عنصرهای غذایی (Sogbesan & Ugwumba, 2008) می‌تواند بر فراسنجه (پارامتر)های تغذیه‌ای و میزان کارایی رشد حشره تأثیرگذار باشد. از این‌رو بررسی شاخص‌های تغذیه‌ای روشی مناسب برای تعیین میزان مطلوبیت کیفی گیاهان میزبان برای حشرهٔ آفت است که از نتایج به‌دست‌آمده از این نوع بررسی‌ها می‌توان در مدیریت تلفیقی آفات استفاده کرد.

یکی از عامل‌های کلیدی در فیزیولوژی گوارش حشرات، آنزیم‌های گوارشی هستند که نقش بسیار مهمی در روابط بین گیاه- گیاه‌خوار دارند. در بین آنزیم‌های گوارشی مؤثر در هضم غذای خورده‌شده،

آمیلازها و پروتئازها اهمیت بیشتری دارند (Borzoui *et al*., 2011). اختلال در سوخت‌وساز (متابولیسم) ریزمغذی‌ها با کاهش کیفیت مواد غذایی و یا مهار هضم درشت (ماکرو)مولکول‌ها به‌وسیلهٔ متابولیت‌های ثانویه به‌عنوان یک هدف کلیدی در کنترل حشرات مدنظر است (Hilder *et al*., 1992).

به‌رغم اینکه سوسک کلرادوی سیب‌زمینی یکی از آفات خطرناک این محصول در بسیاری از مناطق سیب‌زمینی‌کاری ایران از جمله دشت اردبیل شناخته شده است، تاکنون تحقیقات چندانی درزمینهٔ تأثیر رقم‌های مختلف سیب‌زمینی بر شاخص‌های تغذیه‌ای و آنزیم‌های گوارشی حشره به‌منظور شناسایی رقم‌های مقاوم به آفت صورت نگرفته است. با توجه به کارایی شاخص‌های تغذیه‌ای برای تعیین میزان مطلوبیت کیفی گیاهان میزبان برای آفات و تأثیر زیاد ترکیب‌های شیمیایی ثانویهٔ موجود در گیاه سیب‌زمینی روی آنزیم‌های گوارشی سوسک کلرادو (Mardani-Talaee *et al*., 2015)، در این پژوهش به‌منظور شناسایی رقم‌های مقاوم تأثیر رقم‌های مختلف سیب‌زمینی روی شاخص‌های تغذیه‌ای و فعالیت برخی آنزیم‌های گوارشی سوسک کلرادو بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

رقم‌های سیب‌زمینی مورد بررسی

غده‌های سیب‌زمینی رقم‌های مورد آزمایش به نام‌های آگریا، دای فلا، کایزر، لابادیا، لیدی‌روزتا، لوتا، مارفونا و سانته از مؤسسهٔ تحقیقات اصلاح و تهیهٔ نهال و بذر کرج و ایستگاه تحقیقات کشاورزی اردبیل تهیه شد.

تشکیل همسانهٔ سوسک کلرادوی سیب‌زمینی

حشرات کامل سوسک کلرادوی سیب‌زمینی از مزارع سیب‌زمینی دشت اردبیل گردآوری و به آزمایشگاه حشره‌شناسی گروه گیاه‌پزشکی منتقل شدند. به‌منظور تشکیل همسانهٔ (کلنی) اولیهٔ سوسک کلرادوی سیب‌زمینی در آزمایشگاه از گیاه سیب‌زمینی (رقم ارگو) استفاده شد. این حشرات در دمای ۲±۲۵ درجهٔ سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد و دورهٔ نوری ۱۶:۸ (روشنایی: تاریکی) پرورش داده شدند و از تخم‌های گذاشته‌شده برای انجام آزمایش استفاده شد.

تعیین شاخص‌های تغذیه‌ای لاروهای سن سوم *L. decemlineata* روی رقم‌های مختلف سیب‌زمینی

به‌منظور اندازه‌گیری شاخص‌های تغذیه‌ای لاروهای سوسک کلرادوی سیب‌زمینی، به ازای هر رقم سیب‌زمینی ۱۲۰ لارو سن اول بیرون آمده از تخم‌های مورد نظر، به‌صورت جداگانه روی رقم‌های مختلف پرورش داده شدند. شاخص‌های تغذیه‌ای سوسک کلرادو از زمان ظهور لاروهای سن سوم در هفتاد تکرار برای هر رقم بررسی شد. بدین منظور وزن لاروها پیش و پس از تغذیه، وزن فضولات تولیدشده، وزن غذای داده‌شده و وزن غذای باقی‌مانده با استفاده از ترازوی دیجیتالی با دقت چهار صفر اندازه‌گیری شد. غذای حشره هر دو روز یک‌بار عوض شد و برگ جدید در اختیار حشره قرار گرفت و دم برگ هرکدام از برگ‌ها در پنبهٔ خیس قرار داده شد تا از پژمرده شدن برگ در حدامکان جلوگیری شود. برای تعیین وزن خشک، بیست نمونهٔ جداگانه از لاروها، گیاهان مورد آزمایش و فضولات لاروی همزمان با انجام آزمایش اصلی انتخاب و پس از توزین اولیه، در آون ۶۰ درجهٔ سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت به‌کلی خشکانده و وزن خشک آن‌ها ثبت شد. گفتنی است که نمونه‌های مورد استفاده برای تعیین وزن خشک در همان شرایط انجام آزمایش شاخص تغذیه‌ای پرورش یافتند.

شاخص‌های تغذیه‌ای لاروهای سن سوم سوسک کلرادوی سیب‌زمینی روی رقم‌های مختلف سیب‌زمینی با استفاده از رابطه‌های ارائه‌شده توسط Waldbauer (1968) با استفاده از رابطه‌های ۱ تا ۵ محاسبه شدند:

(۱) شاخص تقریبی هضم شوندگی غذا AD (Approximate digestibility):

$$AD = \frac{E - F}{E}$$

(۲) بازدهی تبدیل غذای بلعیده‌شده ECI (Efficiency of Conversion of Ingested Food):

$$ECI = \frac{P}{E}$$

(۳) بازدهی تبدیل غذای هضم‌شده ECD (Efficiency of Conversion of Digested Food):

$$ECD = \frac{P}{E-F}$$

(۴) نرخ مصرف نسبی RCR (Relative Consumption Rate):

$$RCR = \frac{E}{A*T}$$

(۵) نرخ رشد نسبی RGR (Relative Growth Rate):

$$RGR = \frac{P}{A*T}$$

E= وزن غذای خورده‌شده (میلی‌گرم)
A= وزن لارو در طول دوره (میلی‌گرم)
F= وزن فضولات تولیدشده (میلی‌گرم)
P= افزایش وزن لاروها (میلی‌گرم)
T= دورهٔ زمانی مصرف غذا (روز)

تهیهٔ عصارهٔ آنزیمی

به‌منظور تهیهٔ عصارهٔ آنزیمی هشت عدد لارو سن چهارم سوسک کلرادوی سیب‌زمینی انتخاب و از روش Borzoui *et al.* (2013) استفاده شد. بدین‌صورت که لاروهای یادشده درون ظرف‌های پتری شیشه‌ای، که کف آن با آب مقطر ریخته شده و روی یخ قرار گرفته، تشریح و رودهٔ میانی آن‌ها در حجم معینی از آب‌مقطر در ریزلوله (میکروتیوب)های ۲ میلی‌لیتری گردآوری شدند. سپس با استفاده از یک هموژنایزر دستی در دمای ۴ درجهٔ سلسیوس همگن شدند. مخلوط‌های همگن به‌دست‌آمده در دمای ۴ درجهٔ سلسیوس با سرعت g× ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. رونشین‌های به‌دست‌آمده به ریزلوله‌های جدید منتقل و در دمای ۲۰- درجهٔ سلسیوس برای استفاده در آزمایش‌های آنزیمی نگهداری شدند.

تعیین فعالیت آمیلولیتیک گوارشی لاروهای سن چهارم *L. decemlineata* روی رقم‌های مختلف سیب‌زمینی

در آزمون سنجش فعالیت آمیلولیتیکی لاروهای سن چهارم سوسک کلرادوی سیب‌زمینی هر واحد آزمایشی شامل ۶۵ میکرولیتر بافر با اسیدیتهٔ مورد نظر (اسیدیتهٔ ۲ تا ۱۰)، ۱۰ میکرولیتر عصارهٔ آنزیمی به‌دست‌آمده از لاروهای پرورش‌یافته روی برگ رقم‌های مختلف سیب‌زمینی و ۲۵ میکرولیتر نشاستهٔ ۱ درصد بود. پس از ۳۰ دقیقه واکنش در دمای ۳۷ درجهٔ سلسیوس به هر واحد آزمایشی ۱۰۰ میکرولیتر معرف رنگی DNS (۳ و ۵ دی نیترو سالیسیلیک اسید) اضافه شد. سپس به مدت ده دقیقه در حمام آبی ۸۵ تا ۹۵ درجهٔ سلسیوس قرار داده شدند. پس از به حجم رساندن، جذب هرکدام در طول‌موج ۵۴۰ نانومتر با استفاده از طیف‌سنج نوری (اسپکتروفتومتر) تعیین شد. این آزمایش نیز در پنج تکرار به همراه یک شاهد (بلانک) برای هر رقم سیب‌زمینی انجام شد (Bernfeld, 1955).

بررسی فعالیت پروتئین‌شکنی گوارشی لاروهای سن چهارم *L. decemlineata* روی رقم‌های مختلف سیب‌زمینی

سنجش فعالیت پروتئازی لاروهای سن چهارم سوسک کلرادو در اسیدیتهٔ بهینه با استفاده از بسترهٔ (سوبسترای) آزوکازئین و به روش Elpidina *et al.* (2001) با کمی تغییر انجام شد. مخلوط واکنش شامل ۸۰ میکرولیتر محلول آزوکازئین ۱/۵ درصد در بافر مربوط و ۵۰ میکرولیتر عصارهٔ آنزیمی بود. مخلوط نامبرده به مدت پنجاه دقیقه در دمای ۳۷ درجهٔ سلسیوس نگهداری (انکوبه) شد. هضم پروتئینی با اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر کلرواستیک اسید ۳۰ درصد متوقف شد. آزوکازئین آبکافت (هیدرولیز)نشدهٔ موجود در واکنش با قرار گرفتن در دمای ۴ درجهٔ سلسیوس به مدت نیم ساعت به‌طور کامل رسوب داده شد، سپس با سرعت g× ۱۲۰۰۰ به‌مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد. حجمی مساوی از سدیم هیدروکسید دو نرمال به رونشین اضافه و جذب آن در طول‌موج ۴۴۰ نانومتر تعیین شد. در شاهد، عصارهٔ آنزیمی پس از اضافه کردن تری‌کلرواستیک اسید به مخلوط واکنش افزوده شد. هر یک از آزمایش‌ها در پنج تکرار انجام شد.

تجزیهٔ آماری داده‌ها

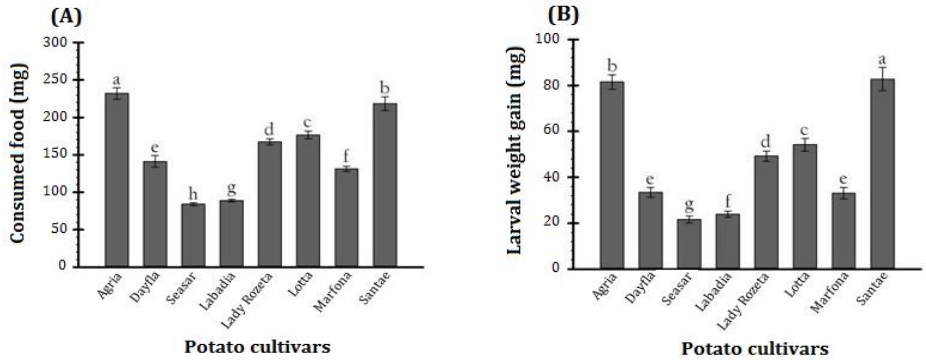
نتایج به‌دست‌آمده از تأثیر رقم‌های مختلف سیب‌زمینی

روی شاخص‌های تغذیه‌ای و فعالیت آنزیم‌های گوارشی سوسک کلرادوی سیب‌زمینی با استفاده از روش تجزیهٔ واریانس یک‌سویه و با نرم‌افزار آماری SAS 9.2 (PROC GLM; SAS Institute, 2003) تجزیهٔ آماری شدند. اختلاف‌های آماری میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد بررسی شد. تجزیهٔ همبستگی شاخص‌های تغذیه‌ای و فعالیت آنزیم‌های گوارشی *Leptinotarsa decemlineata* تغذیه‌شده روی رقم‌های مختلف سیب‌زمینی با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 16.0 انجام شد. همچنین، نمودار خوشه‌ای رقم‌های مختلف سیب‌زمینی بر پایهٔ شاخص‌های تغذیه‌ای و فعالیت آنزیم‌های گوارشی *Leptinotarsa decemlineata* تغذیه‌شده روی رقم‌های مختلف سیب‌زمینی پس از تجزیهٔ خوشه‌ای (کلاستر) به روش وارد با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 16.0 ترسیم شد.

نتایج و بحث

شاخص‌های تغذیه‌ای *L. decemlineata* روی رقم‌های مختلف سیب‌زمینی

میزان غذای خورده‌شده توسط لاروهای تغذیه‌کرده از رقم‌های مختلف سیب‌زمینی تفاوت معنی‌داری با یکدیگر داشت ($F_{7,496} = 524.26$; $P < 0.0001$). کمترین میزان غذای خورده‌شده مربوط به حشرات تغذیه‌کرده از رقم کایزر (۳/۰۹ ± ۸۴/۰۵ میلی‌گرم بر لارو) و بیشترین میزان آن مربوط به حشرات تغذیه‌کرده از رقم آگریا (۸/۸۸ ± ۲۳۱/۹۵ میلی‌گرم بر لارو) بود (شکل ۱-A). کمترین افزایش وزن لارو مربوط به حشرات تغذیه‌کرده از رقم کایزر (۲/۳۱± ۲۱/۷۱ میلی‌گرم) و بیشترین میزان آن مربوط به حشرات تغذیه‌کرده از رقم سانته (۵/۹۶ ± ۸۲/۷۸ میلی‌گرم) بود ($F_{7,496} = 452.89$; $P < 0.0001$) (شکل ۱-B). به‌طورمعمول با کاهش میزان غذای خورده‌شده، دورهٔ نشو و نمای پیش از بلوغ حشره طولانی‌تر شده، جثهٔ حشره کوچک‌تر و وزن آن سبک‌تر از حالت معمول می‌شود (Lazarevic & Peric-Mataruga, 2003). در این تحقیق کمترین و بیشترین وزن لاروی در حشرات پرورش‌یافته روی رقم‌های کایزر و سانته به دست آمد (شکل ۱) که احتمال دارد ناشی از ارزش غذایی متفاوت این رقم‌های برای لاروها بوده باشد. در حشرات عدم برقراری تعادل غذایی سبب افزایش زیست‌سوزی (کاتابولیسم) و افزایش سطح ترشحات بدن می‌شود و بازدهی تبدیل غذای خورده‌شده و غذای هضم‌شده را کاهش می‌دهد. همچنین کمبود برخی مواد مغذی در گیاهان، رشد حشرات را تحت تأثیر قرار می‌دهد (House, 1969). در پژوهش Mardani-Talaee *et al.* (2015) تفاوت در میزان غذای خورده‌شده و افزایش وزن لاروهای سوسک کلرادو پس از تغذیه روی رقم‌های مختلف سیب‌زمینی گزارش شده است. همسان با نتایج این آزمایش، Esfandi *et al.* (2012) گزارش کردند که میزان غذای خورده‌شده توسط لاروهای سوسک کلرادوی تغذیه‌کرده از سیب‌زمینی رقم آگریا بیشتر از لاروهای تغذیه‌کرده از دیگر رقم‌ها بود.



شکل ۱. میانگین (±SE) غذای خورده‌شده (A) و وزن به‌دست‌آمده (B) توسط لاروهای سن سوم سوسک کلرادوی سیب‌زمینی روی رقم‌های مختلف سیب‌زمینی. حرف‌های غیرهمسان نشان‌دهندهٔ وجود اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها هستند (LSD, $P< 0.05$).

Figure 1. (A) Mean consumed food, and (B) larval weight gain of *L. decemlineata* for third larval instars on different potato cultivars. The means followed by different letters are significantly different (LSD, $P< 0.05$).

از شاخص‌های تغذیه‌ای می‌توان به‌عنوان ابزاری سودمند در بهبود درک فیزیولوژی تغذیه و بوم‌شناختی (اکولوژی) حشرات استفاده کرد (Scriber & Slansky, 1981). جدول ۱ شاخص‌های تغذیه‌ای لاروهای سن سوم سوسک کلرادوی سیب‌زمینی پس از تغذیه روی رقم‌های مختلف سیب‌زمینی را نشان می‌دهد. کمترین و بیشترین میزان کارایی هضم نسبی به‌ترتیب روی رقم‌های مارفونا (۵۶/۳۲ ± ۰/۲۷ درصد) و آگریا (۷۲/۲۱ ± ۰/۱۸ درصد) به دست آمد ($F_{7,496}$ = 93.58; P < 0.0001) که تا حدودی همسان با نتایج به‌دست‌آمده توسط Mardani-Talaee *et al.* (2015) است.

کمترین و بیشترین میزان بازدهی تبدیل غذای بلعیده‌شده به‌ترتیب روی رقم‌های دای فلا (۲۳/۷۶±۰/۱۸درصد) و سانته (۳۷/۸۸ ±۰/۱۹درصد) به دست آمد ($F_{7,496}$ = 85.24; P < 0.0001، جدول ۱). همچنین، کمترین میزان بازدهی تبدیل غذای هضم‌شده مربوط به لاروهای تغذیه‌کرده از رقم لابادیا (۳۹/ ۹۲±۰ /۲۸ درصد) و بیشترین میزان آن مربوط به لاروهای تغذیه‌کرده از رقم سانته (۵۴/۱۸ ± ۲/۷۱ درصد) بود ($F_{7,496}$ = 19.04; P < 0.0001) (جدول ۱). در این بررسی، وجود اختلاف معنی‌دار در ECI و ECD حشره روی رقم‌های مختلف سیب‌زمینی نشان می‌دهد که ارزش غذایی رقم‌های مختلف سیب‌زمینی برای این آفت متفاوت است. این تفاوت مطلوبیت غذایی ممکن است به دلیل وجود مهارکننده‌های آنزیمی، متابولیت‌های ثانویه و یا سختی بافت برگ باشد. شاخص ECI بیانگر توانایی یک حشره در استفاده از غذای خورده‌شده برای رشد و نمو است (Nathan *et al.*, 2005). بیشتر بودن میزان ECI روی رقم سانته نشان می‌دهد که در این رقم تبدیل غذای خورده‌شده به زیست‌تودهٔ (بیوماس) بدن توسط لارو به‌طور مؤثرتری انجام گرفته است که درنهایت این تبدیل منجر به افزایش وزن لارو شده است. بررسی‌ها نشان داد، هر چه غذای خورده‌شده توسط حشره کمتر باشد، به همان نسبت بازدهی تبدیل غذا بیشتر خواهد بود (Abisgold & Simpson, 1987).

نتایج این آزمایش نشان می‌دهد، کمترین میزان RCR مربوط به لاروهای تغذیه‌کرده از رقم‌های لابادیا (۰/۰۰۴ ± ۰/۷۵ میلی‌گرم در میلی‌گرم در روز) و کایزر (۰/۰۰۳ ± ۰/۷۵ میلی‌گرم در میلی‌گرم در روز) و بیشترین میزان آن مربوط به لاروهای تغذیه‌کرده از رقم آگریا (۰/۰۰۵ ± ۰/۹۳ میلی‌گرم در میلی‌گرم در روز) بوده است ($F_{7,496}$ = 18.02; P < 0.0001، جدول۱). همچنین، کمترین میزان RGR مربوط به لاروهای تغذیه‌کرده از رقم کایزر (۰۰۱/ ۰± ۰/۱۹ میلی‌گرم در میلی‌گرم در روز)، و در مقابل، بیشترین میزان آن مربوط به لاروهای تغذیه‌کرده از رقم‌های سانته (۰/۰۰۲ ± ۰/۳۲ میلی‌گرم در میلی‌گرم در روز) و آگریا (۰/۰۰۱ ± ۰/۳۲ میلی‌گرم در میلی‌گرم در روز) بود ($F_{7,496}$ = 113.30; P < 0.0001، جدول ۱). نتایج این پژوهش نشان داد، رقم‌های لابادیا و کایزر ارزش غذایی پایینی برای لاروهای سوسک کلرادو داشته و برعکس رقم‌های سانته و آگریا ارزش غذایی بالایی برای لاروها دارند. به‌طورکلی، میزان رشد لاروهایی که از میزبان‌های گیاهی با ارزش غذایی بالا تغذیه می‌کنند، افزایش‌یافته و دورهٔ رشد و نمو آن‌ها سریع‌تر سپری می‌شود (Hwang *et al.*, 2008). در نتایج پژوهش Borzoui *et al.* (2015) بیان شد، پایین بودن مقادیر RCR و RGR ممکن است به دلیل نامناسب بودن جیرهٔ غذایی برای تغذیهٔ آفت باشد.

فعالیت ویژهٔ آمیلولیتیک و پروتئین‌شکنی رودهٔ میانی لارو *L. decemlineata* روی رقم‌های مختلف سیب‌زمینی

نتایج به‌دست‌آمده از فعالیت ویژهٔ آمیلولیتیک عصارهٔ آنزیمی سوسک کلرادوی سیب‌زمینی پس از تغذیه روی رقم‌های مختلف سیب‌زمینی در شکل ۲ ارائه شده است ($F_{7,28;...}$ = 65.57; P < 0.0001). کمترین فعالیت آمیلولیتیک در لاروهای پرورش‌یافته روی رقم‌های کایزر (۰/۰۰۵ ±۰/۰۷۴ U/individual) و لابادیا (۰/۰۰۸ ±۰/۰۸۰ U/individual)، و بیشترین میزان آن در لاروهای پرورش‌یافته روی رقم‌های لوتا (۰/۰۱۸ ± ۰/۱۹۳ U/individual) مشاهده شد. افزون بر این، فعالیت پروتئین‌شکنی (پروتئولیتیک) کل لاروهای سن آخر تغذیه‌کرده از رقم‌های مختلف سیب‌زمینی نیز تفاوت معنی‌داری با یکدیگر داشت

($F_{7,28;...}$ = 18.09; P<0.0001). فعالیت پروتئین‌شکنی کل لاروهای پرورش‌یافته روی رقم‌های آگریا (۰/۰۶۸±۰/۰۰۸ U/individual) و سانته (۰/۰۶۷±۰/۰۰۶ U/individual) بیشتر از دیگر رقم‌ها بود. تغییر در فعالیت ویژهٔ آنزیم‌های گوارشی لاروهای پرورش‌یافته روی رقم‌های مختلف سیب‌زمینی ممکن است تا حدی در پاسخ به تفاوت در میزان غذای خورده‌شده و میزان غذای هضم‌شده توسط حشره باشد (Nation, 2001). فعالیت بالای آمیلازی و پروتئازی در معدهٔ میانی لاروهای پرورش‌یافته روی رقم آگریا ممکن است در نتیجهٔ تعادل مواد غذایی و غلظت پایین ترکیب‌های ثانویه در برگ‌های مورد تغذیه باشد. درجایی که محتوای پروتئین و کربوهیدرات غذا بالاست، حشره فعالیت آمیلولیتیک و پروتئین‌شکنی را بالا می‌برد تا بتواند بیشترین هضم درشت مغذی‌ها و جذب ریزمغذی‌ها را داشته باشد و از این دریافت انرژی بیشتر برای بالا بردن شایستگی رشدی خود استفاده کند (Borzoui *et al.*, 2015). نتایج این آزمایش برابر با یافته‌های Mardani-Talaee *et al.* (2015) است.

جدول ۱. شاخص‌های تغذیه‌ای (میانگین ± خطای معیار) لاروهای سن سوم سوسک کلرادوی سیب‌زمینی روی رقم‌های مختلف سیب‌زمینی

Table 1. Nutritional indices (mean±SE) of third instar larvae of *L. decemlineata* on different potato cultivars

Potato cultivars	n[1]	AD	ECI	ECD	RCR	RGR
Agria	74	72.21±0.18a	35.14±1.10b	48.69±0.21b	0.93±0.005a	0.32±0.001a
Dayfla	62	52.86±0.34g	23.76±0.18h	45.10±0.50c	0.89±0.005b	0.21±0.001d
Ceasar	52	60.78±0.29e	25.82±0.22f	42.53±0.41f	0.75±0.003e	0.19±0.001f
Labadia	57	67.46±0.17d	26.92±0.18e	39.92±0.28h	0.75±0.004e	0.20±0.001e
Lady Rozeta	66	71.23±0.14a	29.41±0.11d	41.30±0.20g	0.86±0.004b	0.21±0.001c
Lotta	71	69.70±0.19c	30.69±0.13c	44.07±0.25de	0.85±0.003c	0.26±0.001b
Marfona	51	56.32±0.27f	25.09±0.26g	44.60±0.52cd	0.84±0.005d	0.21±0.002d
Santae	71	69.97±0.28c	37.88±0.19a	54.18±2.71a	0.86±0.005b	0.32±0.002a

حرف‌های غیرهمسان در هر ستون نشان‌دهندهٔ وجود اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها هستند (P< 0.05, LSD).

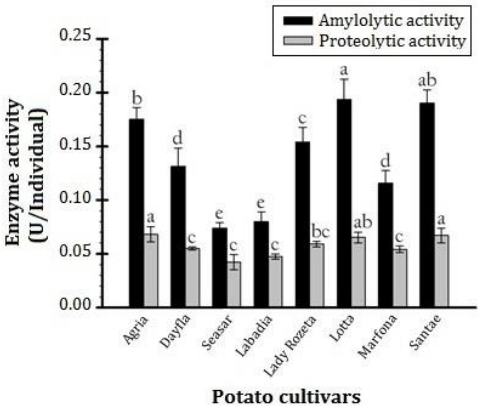
۱. مقادیر n شمار نمونه را برای هر فراسنجه نشان می‌دهد.

AD= کارایی هضم نسبی، ECI= بازدهی تبدیل غذای بلعیده‌شده، ECD= بازدهی تبدیل غذای هضم‌شده، RCR= نرخ مصرف نسبی، RGR= نرخ رشد نسبی

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

1. The n values shows the sample size for each parameter

AD= approximate digestibility, ECI = efficiency of conversion of ingested food, ECD = efficiency of conversion of digested food, RCR = relative consumption rate, RGR = relative growth rate.



شکل ۲. میانگین (±SE) فعالیت آمیلولیتیک و پروتئین‌شکنی کل عصارهٔ آنزیمی رودهٔ میانی لاروهای سن چهارم *Leptinotarsa decemlineata* تغذیه‌شده روی رقم‌های مختلف سیب‌زمینی. حرف‌های غیر همسان نشان‌دهندهٔ وجود اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها هستند (P< 0.05, LSD).

Figure 2. Mean (±SE) amylolytic and proteolytic activity of midgut enzyme extract from *L. decemlineata* fourth instar larvae fed on different potato cultivars. The means followed by different letters are significantly different (LSD, P< 0.05).

بررسی همبستگی شاخص‌های تغذیه‌ای و فعالیت آنزیم‌های گوارشی *L. decemlineata* روی رقم‌های مختلف سیب‌زمینی

تجزیه‌وتحلیل ضریب همبستگی شاخص‌های تغذیه‌ای مورد بررسی در لاروهای سن سوم *L. decemlineata* تغذیه‌کرده از رقم‌های مختلف سیب‌زمینی با فعالیت آلفا-آمیلاز و پروتئاز گوارشی لاروها در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج این بررسی نشان داد، همبستگی بسیار بالایی بین شاخص‌های تغذیه‌ای حشره از یک‌سو و فعالیت آنزیم‌های گوارشی از سوی دیگر وجود دارد. همبستگی بسیار مثبت بین میزان غذای خورده‌شده و وزن لاروی به‌دست‌آمده با هردوی فعالیت آلفا-آمیلاز و پروتئاز دیده شد. این همبستگی مثبت بالا در مورد ECI، RCR و RGR نیز دیده شد (جدول ۳). نتایج تجزیهٔ همبستگی نشان می‌دهد، هرچه فعالیت آنزیم‌های آلفا-آمیلاز و پروتئاز گوارشی

بالاتر می‌رود میزان غذای خورده‌شده افزایش‌یافته و شاخص‌های تغذیه‌ای حشره بهبود می‌یابد که با افزایش وزن لاروی ممکن است در شایستی حشره برای زنده‌مانی و تولیدمثل بالاتر مؤثر باشد.

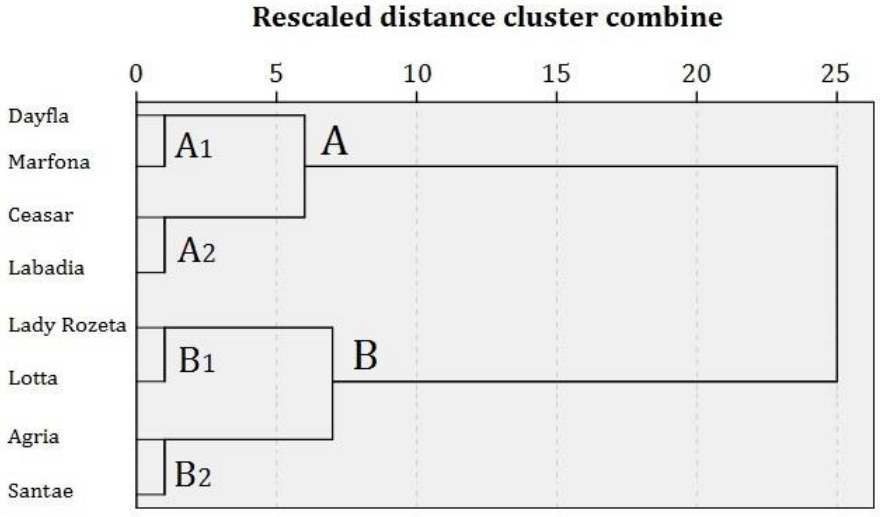
نمودار خوشه‌ای رقم‌های مختلف سیب‌زمینی

نمودار خوشه‌ای رسم‌شده بر پایهٔ پاسخ‌های فیزیولوژیکی سوسک کلرادوی تغذیه‌شده روی رقم‌های مختلف سیب‌زمینی، در شکل ۴ آمده است. نمودار دو خوشه‌ای نشان داده شده با حرف‌های "A" (شامل زیر خوشه‌های A_1 و A_2) و "B" (شامل زیر خوشه‌های B_1 و B_2) شامل رقم‌های مختلف سیب‌زمینی است که با توجه به همسانی در شاخص‌های تغذیه‌ای و فعالیت آنزیم‌های گوارشی درون هر خوشه قرار گرفتند. خوشهٔ A شامل زیر خوشه‌های A_1 (دای فلا و مارفونا) و A_2 (کایزر و لابادیا) به‌عنوان میزبان‌های تا حدودی نامناسب یا بسیار نامناسب شناخته شد. خوشهٔ B شامل زیر خوشه‌های B_1 (لیدی روزتا و لوتا) به‌عنوان یک گروه متوسط و B_2 (اگریا و سانته) به‌عنوان رقم‌های مناسب است. نتایج تجزیه‌وتحلیل خوشه‌ای نشان داد که گروه‌بندی درون هر خوشه ممکن است به‌دلیل سطح بالایی از همسانی فیزیولوژیکی گیاهان میزبان مختلف باشد. این نتایج با مقادیر ECI و RGR در لاروهای تغذیه‌شده روی رقم‌های مختلف سیب‌زمینی همسان بود. بنا بر جدول ۱، مقادیر ECI و RGR در لاروهای سن سوم تغذیه‌شده روی رقم‌های اگریا و سانته بیشترین و روی رقم‌های کایزر و لابادیا کمترین بود.

جدول ۲. ضریب همبستگی (*r*) شاخص‌های تغذیه‌ای و فعالیت آنزیم‌های گوارشی *Leptinotarsa decemlineata* تغذیه‌شده روی رقم‌های مختلف سیب‌زمینی

Table 2. Correlation coefficients (*r*) of nutritional indices and digestive enzymes activity of *L. decemlineata* fed on different potato cultivars

Parameter	Amylolytic activity		Proteolytic activity	
	r	P_{value}	*r*	P_{value}
Consumed food	0.926	0.001	0.972	0.000
Larval weight gain	0.874	0.004	0.927	0.001
AD	0.529	0.178	0.552	0.156
ECI	0.749	0.033	0.792	0.019
ECD	0.646	0.084	0.688	0.059
RCR	0.791	0.020	0.843	0.008
RGR	0.852	0.007	0.909	0.002



شکل ۴. نمودار خوشه‌ای رقم‌های مختلف سیب‌زمینی بر پایهٔ شاخص‌های تغذیه‌ای و فعالیت آنزیم‌های گوارشی *L. decemlineata* تغذیه‌شده روی رقم‌های مختلف سیب‌زمینی (بر پایهٔ روش وارد)

Figure 4. Dendrogram of different potato cultivars according to nutritional indices and digestive enzymes activity of *L. decemlineata* fed on different potato cultivars (Ward's method)

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج مربوط به شاخص‌های تغذیه‌ای نشان داد، سوسک کلرادوی سیب‌زمینی روی رقم‌های کایزر و لابادیا کمترین میزان غذای خورده‌شده و کمترین افزایش وزن لاروی را داشتند. همچنین شاخص‌های تغذیه‌ای، به‌ویژه میزان ECI، RCR و RGR در رقم‌های بالا نیز پایین بود. فعالیت آنزیم‌های آلفا-آمیلاز و پروتئاز گوارشی روی این دو رقم پایین‌ترین میزان بود که ممکن است عامل مهمی در پایین بودن میزان غذای خورده‌شده و وزن به‌دست‌آمدهٔ لاروی و در نتیجه کاهش فراسنجه‌های مرتبط با شایستگی رشدی حشره باشد. چنین ارتباطی در تجزیه‌های همبستگی بین شاخص‌های تغذیه‌ای و فعالیت آنزیم‌های گوارشی نیز دیده شد. با توجه به این نتایج می‌توان رقم‌های کایزر و لابادیا را به‌عنوان نامناسب‌ترین میزبان برای سوسک کلرادوی سیب‌زمینی معرفی کرد. نتایج تجزیهٔ نمودار خوشه‌ای نیز نشان می‌دهد، این دو رقم با قرار گرفتن در یک زیرخوشه به‌عنوان نامناسب‌ترین رقم‌ها هستند. داده‌های به‌دست‌آمده از این تحقیق می‌تواند در طراحی رهیافت‌های سودمند در مدیریت تلفیقی این آفت در قالب استفاده از رقم‌های مقاوم و به‌منظور کاهش کاربرد سموم در کنترل شیمیایی این آفت استفاده شود.

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه محقق اردبیلی انجام شده است، بدین‌وسیله از مسئولان مربوط، تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

1. Abisgold, J. D. & Simpson, S. J. (1987). The physiology of compensation by locusts for changes in dietary protein. *Journal of Experimental Biology*, 129, 329-346.
2. Bernfeld, P. (1955). Amylases, a and b. *Methods Enzymology*, 1, 149-158.
3. Borzouei, E., Bandani, A. R. & Moslemi, A. (2013). Inhibitory effect of wheat seed cultivars extracts on digestive alpha-amylase activity of Colorado potato beetle. *Plant Pests Research*, 2(4), 15-26.
4. Borzoui, E., Bandani, A. R. & Goldansaz, S. H. (2013). Effects of cereal seed protinaceous extracts on α-amylase and proteinase activity of salivary glands of Carob moth, *Ectomyelois ceratoniac* (Lepidoptera: pyralidae). *Journal of Crop Protection*, 2, 285-296.
5. Borzoui, E., Naseri, B. & Namin, F. R. (2015). Different diets affecting biology and digestive physiology of the Khapra beetle, *Trogoderma granarium* Everts (Coleoptera: Dermestidae). *Journal of Stored Products Research*, 62, 1-7.
6. Chapman, R. F. (1998). *The Insects: Structure and Function. Cambridge*, UK: Cambridge University Press. pp: 788.
7. Dent, D. (2000). *Host plant resistance*. pp: 123-179 in Dent, D. (Ed) Insect Pest Management. CABI Publishing, U.K.
8. Elpidina, E. N., Vinokurov, K. S., Gromenko, V. A., Rudenskaya, Y. A., Dunaevsky, Y. E. & Zhuzhikov, D. P. (2001). Compartmentalization of proteinases and amylases in *Nauphoeta cinerea* midgut. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 48, 206-216.
9. Esfandi, K., Kazemi, M. H. & Iranipour, S. (2012). Effects of four potato varieties on nutritional measures of Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* (Say). *Journal of Crops Entomology*, 2(1), 25-34.
10. Haynes, K. F. & Millar, J. G. (1998). *Methods in chemical ecology*. NewYork. pp: 406.
11. Hilder, V. A., Gatehouse, A. M. R. & Boulter, D. (1992). *Transgenic plants conferring insect tolerance: proteinase inhibitor approach*. In: Transgenic Plants, Kung, S. and Wu, R., Vol 1. Academic Press, New York, pp: 317-338.
12. House, H. L. (1969). Effects of different proportions of nutrients on insects. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 12, 651-669.
13. Hwang, S. Y., Liu, C. H. & Shen, T. C. (2008). Effects of plant nutrient availability and host plant species on the performance of two *Pieris* butterflies (Lepidoptera: Pieridae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 36, 505-513.
14. Lazarevic, J. & Peric-Mataruga, V. (2003). Nutritive stress effects on growth and digestive physiology of *Lymantria dispar* larvae. *Yugoslav Medical Biochemistry*, 22, 53-59.
15. Lyytinen, A., Lindstrom, L., Mappes, J., Tiitto, R. J., Fasulati, S. R. & Tiilikhala, K. (2007). Variability in host plant chemistry: behavioral responses and life-history parameters of the Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*). *Chemoecology*, 17, 51-56.

16. Mardani-Talaee, M., Zibaee, A., Nouri-Ganbalani, G., Rahimi, V. & Tajmiri, P. (2015). Effects of potato cultivars on some physiological processes of *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology*, 108(5), 2373-82.
17. Martin, L. A. & Pulin, A. S. (2004). Host-plant specialization and habitat restriction in an endangered insect, *Lycaena dispar batavus* (Lepidoptera: Lycaenidae) I. Larval feeding and oviposition preferences. *European Journal of Entomology*, 101, 51-56.
18. Nathan, S. S., Chung, P. G. & Murugan, K. (2005). Effect of biopesticides applied separately or together on nutritional indices of the rice leafolder *Cnaphalocrocis medinalis*. *Phytoparasitica*, 33, 187-195.
19. Nation, J. L. (2001). *Insect Physiology and Biochemistry*. Boca Raton, Fla., CRC Press.
20. Nouri-Ganbalani, G. (1985). *Colorado PotatoBeetle*. Tabriz University Publisher. pp: 185.
21. Painter, R. H. (1951). Resisance of plant to insect. *Annual Review of Entomology*, 3, 267-290.
22. Panda, N. & Khush, G. S. (1995). *Host Plant Resistance to Insect*. CAB International, pp: 431.
23. Patankar, A. G., Giri, A. P., Harsulkar, A. M., Sainani, M. N., Deshpande, V. V., Ranjekar, P. K. & Gupta, V. S. (2001). Complexity in specificities and expression of *Helicoverpa armigera* gut proteases explains polyphagous nature of the insect pest. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 31, 453-464.
24. Pedigo, L. P. & Rice M. E. (2009). *Entomology and Pest Management*, 6th ed., Waveland Press, U.S.A, pp: 784.
25. Rezaei, A. M. & Soltani, A. (2001). *Potato Crop Cultivation*. SID Publisher, 3th edition., pp: 179.
26. Sarfraz, M., Dosdall, L. M. & Keddie, B. A. (2006). Diamondback moth-host plant interactions: Implications for pest management. *Crop Protection*, 25, 625-636.
27. SAS (2003). *A Guide to Statistical and Data Analysis*. Version 9.1. SAS Institute, Cary.
28. Scriber, J. M. & Slansky, F. (1981). The nutritional ecology of immature insects. *Annual Review of Entomology*, 26, 183-211.
29. Smith, C. M., Khan, Z. R. & Pathak, M. D. (1994). *Techniques for Evaluating Insect Resistance in Crop Plants*. CRC Press. pp: 320.
30. Sogbesan, A. O. & Ugwumba, A. A. A. (2008). Nutritional evaluation of termite (*Macrotermes subhyalinus*) meal as animal protein supplements in the diets of *Heterobranchus longifilis* (Valenciennes, 1840) fingerlings. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 8, 149-157.
31. Tisler, A. M. & Zehnder, G. W. (1990). Insecticide resistance in the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) on the eastern shore of Virginia. *Journal of Economic Entomology*, 83, 666-677.
32. Waldbauer, G. P. (1968). The consumption and utilization of food by insects. *Advances in Insect Physiology*, 5, 229-288.
33. Yasar, B. & Gungor, M. A. (2005). Determination of life table and biology of Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* Say (Col. Chrysomelidae), feeding on five different potato varieties in Turkey. *Applied Entomology and Zoology*, 40, 589-596.