گیاه‌پزشکی (مجله علمی کشاورزی)
جلد ۴۵، شماره۱، بهار ۱۴۰۱

doi 10.22055/ppr.2022.17365

تأثیر برهم‌کنش تغذیه‌ای بین محرک‌های رشد گیاه و شته سبز هلو، *Myzus persicae* (Sulzer)، بر فرآیندهای فیزیولوژیکی کفشدوزک دو نقطه‌ای، *Adalia bipunctata* L.

مژگان مردانی طلایی [۱،۲]*، قدیر نوری قنبلانی[۳]، آرش زیبایی[۴]، جبرائیل رزمجو[۳]، مهدی حسن‌پور[۳] و بهرام ناصری[۳]

۱- *نویسنده مسوول: دکتری حشره‌شناسی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران (mardani@uma.ac)

۲- دکتری حشره‌شناسی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران.

۳- استاد، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۴- دانشیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۲۸

چکیده

کفشدوزک دو نقطه‌ای، *Adalia bipunctata*، گونه‌ای چندین‌خوار بوده که عمدتاً از شته‌ها از جمله شته سبز هلو، به عنوان یکی از آفات مهم گلخانه و مزارع، تغذیه می‌کنند. در این تحقیق تأثیر محلول‌پاشی سولفات روی بر گیاه فلفل دلمه‌ای، و همچنین تأثیر کود آلی ورمی‌کمپوست ۳۰ درصد و کود زیستی *Bacillus subtilis* بر بستر بذری گیاه فلفل دلمه‌ای بر فعالیت‌های فرآیندهای فیزیولوژیکی مهم *A. bipunctata* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بین فعالیت‌های آنزیم‌های گوارشی، آنزیم‌های دخیل در متابولیسم حدواسط‌ها و ترکیبات ذخیره‌ای کفشدوزک دو نقطه‌ای، پرورش‌یافته روی شته‌های تغذیه کننده از گیاه فلفل‌دلمه‌ای تیمار شده با کودهای مختلف، تفاوت معنی‌داری وجود داشت. کم‌ترین میزان فعالیت پروتئاز کل کفشدوزک شکارگر روی شاهد در مقایسه با سایر تیمارها مشاهده شد. میزان فعالیت الاستاز کفشدوزک روی *B. subtilis* نسبت به سایر تیمارها افزایش پیدا کرد. بیش‌ترین و کم‌ترین میزان فعالیت کاتپسین B در کفشدوزک به ترتیب روی *B. subtilis* و کود آلی ورمی‌کمپوست ۳۰ درصد ثبت شد. بیش‌ترین و کم‌ترین میزان لیپوپروتئین با چگالی کم (LDL) در کفشدوزک دو نقطه‌ای به ترتیب روی شاهد و تیمار *B. subtilis* مشاهده گردید. کفشدوزک شکارگر روی *B. subtilis* بیش‌ترین میزان پروتئین، تری‌گلیسرید و گلیکوژن را در مقایسه با سایر تیمارها داشتند. همچنین، کم‌ترین میزان تری‌گلیسرید و گلیکوژن روی کود آلی ورمی‌کمپوست ۳۰ درصد مشاهده شد. بنابراین، برهم‌کنش گیاه-گیاه‌خوار تحت تأثیر کود زیستی منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی و ترکیبات ذخیره‌ای در کفشدوزک شده که می‌تواند همراه با بکارگیری عوامل کنترل بیولوژیک در برنامه‌های مدیریت تلفیقی شته سبز هلو در گلخانه‌ها مورد استفاده قرار گیرد.

کلیدواژه‌ها: آنزیم‌های گوارشی، برهم‌کنش سه سطحی، ترکیبات ذخیره‌ای، کود، متابولیسم حدواسط

دبیر تخصصی: دکتر سید علی همتی

Citation: Mardani- Talaee, M., Nouri- Ganblani, G., Zibaee, A., Razmjou, J., Hassanpour, M., & Naseri, B. (2022). Effect of nutritional interaction between plant growth stimulants and peach green aphid (*Myzus persicae* Sulzer) on physiological processes of two-spotted ladybird (*Adalia bipunctata* L.). Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture), 45(1): 65-82. 10.22055/ppr.2022.17365.

مقدمه

در سال‌های اخیر، حساسیت مصرف‌کنندگان محصولات کشاورزی در بیشتر کشورها به کیفیت و سلامتی آن‌ها افزایش یافته است. از سوی دیگر مصرف بی‌رویه‌ی کودهای شیمیایی در یک قرن گذشته خسارت زیست‌محیطی جبران‌ناپذیری برای بشر داشته است. یکی از راه‌کارهای جایگزین، استفاده از کودهای زیستی به ویژه ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاهی[1] (PGPR) است. امروزه استفاده از این کودها در تغذیه‌ی گیاهان زراعی در زیست‌بوم‌های کشاورزی پایدار در سراسر جهان در حال افزایش می‌باشد که می‌توانند بر کیفیت تغذیه، متابولیت‌های ثانویه، آنزیم‌ها، هورمون‌های گیاهی و ترکیبات آلی فرار[2] (VOCs) گیاهان اثر گذار باشند. علاوه بر این، PGPR می‌توانند به نوبه‌ی خود بر تعاملات بین گیاه میزبان، گیاه‌خوار و دشمنان طبیعی موثر باشند (Megali et al., 2015; Gadhave et al., 2016). ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاهی به طور مستقیم و غیرمستقیم ساز و کارهای دفاعی گیاه علیه حشرات گیاه‌خوار را فعال می‌کنند (Harun-Or-Rashid & Chung, 2017). دفاع مستقیم شامل ویژگی‌های فیزیکی و/ یا شیمیایی است که مانع فعالیت‌های تغذیه‌ای و تخم‌گذاری حشره گیاه‌خوار شده، در حالی که دفاع غیر مستقیم شامل VOCsهایی مانند ترکیبات فرار برگ سبز[3] (GLVs) برای جذب دشمنان طبیعی و محافظت گیاهان در برابر حشرات گیاه‌خوار است (Heinen et al., 2018). از سوی دیگر، ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاهی می‌تواند سبب تولید آنتی‌بیوتیک‌ها وکاهش پتانسیل الکتریکی غشای ریشه‌ها، سیدروفورها[4]، هورمون‌های گیاهی، تثبیت نیتروژن، تولید انواع آنزیم‌ها مانند ACC- دآمیناز[5] و افزایش قابلیت دسترسی به عناصر غذایی شوند (Lucy et al., 2004). در مطالعه‌ای Valenzuela-Soto et al. (2010) گزارش کردند باکتری *B. subtilis* بیان ژن‌های مستقل از جاسمونیک اسید[6] (JA) مانند ژن‌های فتوسنتزی، ژن‌های مسیرهای بیوسنتزی فنیل- پروپانوئید و ترپنوئید و همچنین ژن‌های وابسته به JA مانند پروتئازها و ژن‌های کدکننده بازدارنده پروتئیناز را افزایش می‌دهد که سبب ایجاد مقاومت در گیاه گوجه‌فرنگی نسبت به تغذیه مگس سفید، *Trialeurodes vaporariorum* Westwood می‌شوند.

کودها می‌توانند با اثر روی کیفیت تغذیه گیاهان، در انتخاب میزبان توسط حشرات گیاه‌خوار (Sarfraz et al., 2009a) و همچنین اثرات از پایین به بالا[7] تغذیه‌ای روی دشمنان طبیعی حشرات گیاه‌خوار نقش مهمی ایفا نمایند (Sarfraz et al., 2009b). به عنوان مثال، ریز مغذی روی به عنوان یکی از هفت ریز مغذی ضروری در رشد طبیعی و تولیدمثل گیاهان است که در ساختمان ۳۰۰ نوع آنزیم و پروتئین مشارکت داشته و کمبود آن فعالیت چندین آنزیم مهم از جمله فسفاتازها، الکل دی‌هیدروژناز، دیمیدین‌کیناز، کربوکسی‌پپتیداز، DNA و RNA پلیمراز را کاهش می‌دهد (Khosa et al., 2011). بنابراین، ریز مغذی روی با متابولیسم ساکارید، فتوسنتز و سنتز پروتئین مرتبط بوده و همچنین نقش آن، در ایجاد یک سامانه‌ی دفاعی سلولی در برابر گونه‌های اکسیژن فعال (ROS)[8] مشهود می‌باشد (Stoyanova & Doncheva, 2002). به همین دلیل استفاده از کود سولفات روی در بسیاری از محصولات زراعی به تدریج متداول شده است. گیاهان تیمار شده با ریز مغذی روی اثرات مثبتی بر نشوونما حشرات

1. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria
2. Volatile organic compounds
3. Green leaf volatiles
4. Siderophores
5. Aminocyclopropane-1-Carboxylic Acid (ACC) Deaminase
6. Jasmonic acid
7. Bottom-up effects
8. Reactive Oxygen Species

مکنده و دارای اثرات منفی بر بقاء و نشوونما حشرات گیاه‌خوار جونده داشتند (Noret et al., 2007; Alizamani et al., 2020). علاوه بر این، ورمی‌کمپوست نوعی کود آلی است که محصول هضم کرم‌های خاکی بوده و از طریق تعاملات بین کرم خاکی و ریزجانداران مختلف و در شرایط غیر گرمایی تجزیه می‌شود. ورمی‌کمپوست سبب تسهیل جذب عناصر غذایی مانند نیتروژن، پتاسیم، کلسیم، منیزیم و فسفر به وسیله‌ی گیاه می‌گردد. همچنین، استفاده از ورمی‌کمپوست در خاک می‌تواند از طریق تقویت سیستم دفاعی سبب القای مقاومت در گیاه به برخی از آفات و بیماری‌ها شود (Razmjou et al., 2011; Mardani-Talaee et al., 2017).

کفشدوزک دو نقطه‌ای، *Adalia bipunctata* L. (Col.: Coccinellidae)، یکی از شکارگرهای چندین‌خوار در اروپا، آسیای‌مرکزی و امریکای‌شمالی است که به طور عمده از شته‌ها تغذیه می‌کند (Wyss et al., 1999). این کفشدوزک در اروپا پتانسیل بالایی در کنترل بیولوژیک اشباعی شته‌ها نشان داده است. همچنین به عنوان شکارگر شته سبز هلو که روی طیف وسیعی از محصولات زراعی، سبزی‌ها و درختان میوه در شرایط مزرعه و گلخانه‌ای یافت می‌شود (De Clercq et al., 2005; Özgökçe et al., 2018). شته سبز هلو از آفات مهم فلفل‌دلمه‌ای، *Capsicum annuum* L. است که موجب کاهش کیفیت و کمیت این محصول می‌شود (Frantz et al., 2004). فلفل‌دلمه‌ای گیاهی یک‌ساله و متعلق به تیره‌ی بادمجانیان[1] که دارای خواص دارویی بسیار ارزشمندی بوده و در درمان بسیاری از بیماری‌ها از جمله بیماری‌های قلبی، فشار خون بالا، چاقی و دیابت کاربرد دارد (Chavez-Mendoza et al., 2013). با توجه به اهمیت خسارت شته سبز هلو روی فلفل دلمه‌ای یکی از روش‌های متداول در جهت کنترل این آفت استفاده از آفت‌کش‌های شیمیایی است که اثرات مخربی بر محیط زیست و سلامت انسان به همراه دارند. امروزه یکی از روش‌های ایمن که مورد توجه متخصصین قرار گرفته، استفاده از عوامل بیولوژیک در کنترل آفات می‌باشد. برای ارزیابی، کارایی و در نهایت انتخاب عوامل کنترل بیولوژیک با کارآیی مطلوب معیارهای مختلفی وجود دارد. یکی از این معیارها، ارزیابی فرآیندهای فیزیولوژیکی دخیل در سیستم تغذیه‌ای بین شکار و شکارگر می‌باشد. از این‌رو تنظیم یک برنامه مدیریت آفات زمانی کامل‌تر خواهد بود که شناخت صحیحی از ویژگی‌های تغذیه‌ای حشره شکارگر نیز در اختیار باشد. تاکنون پژوهشی در مورد تاثیر کودهای آلی، زیستی و شیمیایی روی ویژگی‌های تغذیه‌ای کفشدوزک *A. bipunctata* روی شته سبز هلو در ایران صورت نگرفته است و بنابراین، مطالعه حاضر می‌تواند در شناخت بیشتر و بکارگیری این کفشدوزک در کنترل بیولوژیک شته سبز هلو مفید واقع شود.

مواد و روش‌ها

کشت گیاهان میزبان

گیاه فلفل‌دلمه‌ی رقم کالیفرنیا واندر[2] از مرکز کشت فلات استان فارس تهیه و در داخل گلدان‌های پلاستیکی به قطر دهانه‌ی ۱۵ و ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر در گلخانه‌ی تحقیقات گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه محقق اردبیلی کشت شد. خاک زراعی مورد نیاز از مزرعه‌ی سیب‌زمینی در روستای نیار در سه کیلومتری شمالی اردبیل تهیه گردید. مجموع آزمایش‌ها در گلخانه تحقیقات و آزمایشگاه گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه محقق اردبیلی و دانشگاه گیلان طی سال‌های ۱۳۹۳ تا ۱۳۹۴ انجام گرفت.

آزمایش‌ها با سه تیمار و یک شاهد در قالب طرح کاملاً تصادفی در شرایط گلخانه با دمای ۵ ±۲۵، رطوبت نسبی

1- Solanaceae

2- California Wonder

۶۵± ۱۰ و نور طبیعی انجام شد. تیمارها عبارت بودند از: (۱) گیاه فلفل‌دلمه‌ای پرورش‌یافته در خاک زراعی معمولی بعلاوه محلول‌پاشی گیاه در مرحله‌ی چهار تا شش برگی با محلول یک در هزار سولفات روی، (۲) گیاه فلفل‌دلمه‌ای پرورش‌یافته در مخلوطی از خاک زراعی معمولی با ورمی‌کمپوست به نسبت ۳۰ درصد، (۳) کشت گیاه در خاک زراعی معمولی و تیمار بذر قبل از کشت با کود زیستی باکتریایی *Bacillus subtilis* (به ازای هر بذر، نرخ CFU/ mL [1]، 1×10^{7})، و ۴) گیاه فلفل‌دلمه‌ای پرورش‌یافته در خاک زراعی معمولی به عنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شد.

کود ورمی‌کمپوست به کار رفته از شرکت پارس کود استان تهران تهیه گردید. این کود حاوی ۱/۸ درصد نیتروژن، ۳/۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم فسفر بود. اسیدیته‌ی آن برابر ۷/۳ و هدایت الکتریکی ویژه آن ۲/۲ دسی‌سیمینز بر متر (ds/m) بود. کود سولفات روی نیز از شرکت مرک[2] آلمان تهیه گردید که مقدار خلوص روی آن ۱۰۰ درصد بود. کود زیستی باکتریایی *B. subtilis* از موسسه‌ی آب و خاک کرج تهیه گردید.

پرورش شته سبز هلو و کفشدوزک دو نقطه‌ای

جمعیت اولیه شته سبز هلو از مزارع گوجه‌فرنگی و فلفل استان اردبیل تهیه شد. سپس شته‌های جمع‌آوری شده با استفاده از قلم موی نازک روی بوته‌های فلفل دلمه‌ای در شرایط گلخانه‌ای منتقل و پرورش داده شدند. جهت حفظ کلنی و جلوگیری از پارازیته و شکار شدن 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 تشکیل کلنی کفشدوزک، جمعیت اولیه‌ی کفشدوزک دو نقطه‌ای از باغات مختلف استان‌های اردبیل و گیلان جمع‌آوری شد. کفشدوزک‌های مربوطه به صورت جفت‌های نر و ماده در داخل ظروف پتری به قطر ۹ و عمق ۱ سانتی‌متر در داخل اطاقک رشد تنظیم‌شده در دمای ۲ ±۲۵ درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی ۵ ±۶۵ درصد و دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی پرورش داده شد. 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 و کفشدوزک‌ها در ظروف جدید قرار داده شدند. تغذیه‌ی کفشدوزک‌ها به صورت روزانه با جمعیت‌های از شته سبز هلو از تیمارهای مختلف به صورت جداگانه انجام شد. روزانه تخم‌های گذاشته شده به وسیله هر جفت از محیط پرورش و برگ گیاهان میزبان با استفاده از قلم موی نازک جدا شده و به ظروف پتری دیگر برای تفریخ و پرورش کلنی کفشدوزک انتقال داده شدند. پس از تفریخ تخم‌ها برای تغذیه‌ی لاروها، برگ‌های آلوده به شته‌های پرورش‌یافته روی تیمارهای مختلف کودی به پتری‌ها اضافه شد. پتری‌های حاوی لارو روزانه بازدید و مقداری گیاه آلوده به شته در اختیار آن‌ها قرار گرفت. با افزایش سنین لاروی و با افزایش میزان تغذیه، میزان شته‌ی بیشتری در اختیار لاروها قرار گرفت. برای جلوگیری از خارج شدن لاروهای سنین اول و دوم از ظروف آزمایش، به دلیل جثه خیلی ریز و تحرک بالای آن‌ها درپوش ظروف پتری با پارافیلم محکم شد. لاروهای سن آخر پس از تکمیل نشوونمای خود کم تحرک شده و از قسمت انتهای بدن به کف پتری به سطح برگ می‌چسبند که برابر با شروع مرحله‌ی شفیرگی است. قبل از شروع آزمایش اصلی کفشدوزک دو نقطه‌ای حداقل به مدت یک نسل روی شته سبز هلو و گیاه فلفل‌دلمه‌ای رقم کالیفرنیا واندر در هر یک از تیمارهای مختلف کودی پرورش داده شدند.

1- Colony- Forming Units Per Milliliter

2- Merck

بررسی تأثیر کودهای مختلف بر آنزیم‌های گوارشی کفشدوزک، *A. bipunctata*

آماده‌سازی نمونه‌ها

برای مطالعات آنزیمی ابتدا به تعداد پنج حشره بالغ کفشدوزک که ۴۸ ساعت از شته‌های پرورش‌یافته روی تیمارهای مختلف کودی، به صورت تصادفی از هر تیمار انتخاب شدند. سپس به وسیله‌ی هموژنایزر شیشه‌ای در آب مقطر مخلوط شدند. نمونه‌ها با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه در دمای چهار درجه سلسیوس به مدت پنج دقیقه سانتریفیوژ شده و محلول رونشین به عنوان منبع آنزیمی استفاده شد (Ferreira & Terra, 1983). آزمایش‌های بیوشیمیایی با سه تکرار انجام شدند.

اندازه‌گیری فعالیت برخی از سرین و سیستئین پروتئینازها (اندوپپتیدازها)

فعالیت تریپسین و الاستاز (سرین‌پروتئینازها) با استفاده از غلظت یک میلی‌مولار BApNA (Nabenzoyl- L- arginine- *p*- nitroanilide) به عنوان زیرنهشت اختصاصی تریپسین و SAAApNA (N- succinyl- alanine- lanine- alanine- *p*- nitroanilide) به عنوان زیرنهشت اختصاصی الاستاز اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل ۵۰ میکرولیتر بافر عمومی (۲۰ میلی‌مولار، اسیدیته‌ی ۷) ، ۲۰ میکرولیتر از زیرنهشت‌های ذکرشده و ۱۰ میکرولیتر نمونه آنزیمی بود (Oppert et al., 1997). مخلوط واکنش به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۰ درجه سلسیوس انکوبه‌شده و در نهایت در طول موج ۴۰۵ نانومتر با دستگاه میکروپلیت‌ریدر قرائت شد.

فعالیت کاتپسین B و L (سیستئین پروتئازها) به ترتیب با استفاده از زیرنهشت‌های Z-Ala-Arg- Arg 4- metjoxy-bnaphtylamide acetate و N-benzoyl- Phe-Val-Arg-p-nitroanilide hydrochloride تعیین گردید. ۲۰ میکرولیتر از زیرنهشت به طور جداگانه به ۵۰ میکرولیتر از بافر عمومی (۲۰ میلی‌مولار، اسیدیته‌ی ۵) و همراه با ۱۰ میکرولیتر از آنزیم به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۰ درجه انکوبه شد. به محصول واکنش ۱۰۰ میکرولیتر تری‌استیک‌اسید (۳۰ درصد) اضافه شد و سپس در طول موج ۴۰۵ نانومتر با دستگاه میکروپلیت‌ریدر قرائت شد (Gruden et al., 1998).

اندازه‌گیری فعالیت پروتئاز کل

سنجش فعالیت پروتئاز کل با استفاده از زیرنهشت آزوکازئین (دو درصد) طبق روش Elpidina et al. (2001) انجام شد. مخلوط واکنش شامل ۸۰ میکرولیتر بافر یونیورسال (۲۰ میلی‌مولار، اسیدیته‌ی ۹)، ۴۰ میکرولیتر آزوکازئین و ۲۰ میکرولیتر نمونه بود. بعد از ۶۰ دقیقه انکوبه‌شدن در دمای ۳۷ درجه سلسیوس، ۸۰ میکرولیتر محلول تری‌کلرواستیک اسید (۳۰ درصد) اضافه شده و نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه در ۱۳۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شدند. در نهایت حجم مساوی از هیدروکسید سدیم (۲ مولار) اضافه شده و میزان جذب در ۴۵۰ نانومتر با دستگاه میکروپلیت‌ریدر اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری فعالیت آلفا- آمیلاز

فعالیت آلفا- آمیلاز با استفاده از روش Bernfeld (1955) مورد بررسی قرار گرفت. برای این آزمایش، ۸۰ میکرولیتر بافر عمومی (۲۰ میلی‌مولار، با اسیدیته‌ی ۷)، ۴۰ میکرولیتر نشاسته‌ی ۱ درصد به عنوان زیرنهشت و ۲۰ میکرولیتر محلول آنزیمی حاصل از حشرات کامل تغذیه‌کرده از شته‌های پرورش‌یافته روی میزبان‌های کودی مختلف به طور جداگانه، در دمای ۳۵ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه شد. سپس مقدار ۱۰۰ میکرولیتر معرف دی‌نیترو سالیسیک اسید به مخلوط اضافه شده و به مدت ۱۰ دقیقه در آب جوش قرار گرفت. در نهایت میزان جذب نور به وسیله‌ی میکروپلیت‌ریدر در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری فعالیت لیپاز

سنجش فعالیت لیپاز به روش Tsujita et al. (1989) انجام گرفت. بدین ترتیب که ۵۰ میکرولیتر بافر یونیورسال

۲۰ میلی‌مولار با اسیدیته‌ی ۷، ۲۰ میکرولیتر پی-نیتروفنیل‌بوتیرات (۲۷ میلی‌مولار) به عنوان زیرنهشت و پنج میکرولیتر عصاره‌ی حاصل از کل بدن کفشدوزک بالغ پس از تغذیه از شته‌های پرورش‌یافته روی گیاهان میزبان‌ها تیمار شده با کودهای مختلف، به مدت یک دقیقه در دمای ۳۷ درجه‌ی سلسیوس انکوبه شد و سپس میزان جذب در طول موج ۴۰۵ نانومتر به وسیله‌ی میکروپلیت‌ریدر بررسی شد.

اندازه‌گیری میزان لیپوپروتئین با چگالی زیاد و کم

برای اندازه‌گیری مقادیر لیپوپروتئین با چگالی زیاد (HDL) و لیپوپروتئین با چگالی کم (LDL)، از روش Schaefer & McNamara (1997) و کیت زیست‌کم (تهران، ایران) استفاده شد. برای لیپوپروتئین با چگالی زیاد، ۵۰ میکرولیتر معرف به همراه پنج میکرولیتر نمونه به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه شدند و سپس به مدت دو دقیقه در دمای ۱۵ درجه‌ی سلسیوس با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و جذب آن‌ها در طول موج ۴۹۲ نانومتر خوانده شد. برای نمونه استاندارد از معرف استاندارد کیت زیست‌کم استفاده شد. همچنین، در مورد لیپوپروتئین با چگالی کم، ۲۰ میکرولیتر معرف اول به همراه پنج میکرولیتر نمونه به مدت پنج دقیقه انکوبه شدند و ۱۰ میکرولیتر معرف دوم به آن‌ها اضافه شد و پس از پنج دقیقه جذب در طول موج ۵۴۵ نانومتر با دستگاه میکروپلیت‌ریدر اندازه‌گیری شد.

بررسی تأثیر گیاهان تیمارشده با کودهای مختلف بر متابولیسم کفشدوزک، *A. bipunctata*

اندازه‌گیری فعالیت آلانین‌آمینوترانسفراز

فعالیت آنزیم آلانین‌آمینوترانسفراز به روش Thomas (1998) و با استفاده از کیت شرکت زیست‌کم (تهران، ایران) اندازه‌گیری شد. ابتدا ۵۰ میکرولیتر معرف B با ۱۰ میکرولیتر معرف D به مدت پنج دقیقه انکوبه شدند، سپس نمونه‌ی آنزیمی اضافه شد (در بلانک به جای آنزیم، ۱۰ میکرولیتر معرف E ریخته شد) و پس از ۳۰ دقیقه، ۵۰ میکرولیتر معرف C اضافه شد. ۲۰ دقیقه‌ی بعد، ۱۱۰ میکرولیتر سدیم هیدروکسید ۰/۴ نرمال اضافه شده و پس از پنج دقیقه، جذب در طول موج ۳۴۰ نانومتر با دستگاه میکروپلیت‌ریدر قرائت شد.

اندازه‌گیری فعالیت آسپارتات‌آمینوترانسفراز

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسپارتات‌آمینوترانسفراز بر مبنای تأثیر آنزیم آمینوترانسفراز روی اسیدآمینه‌ی آسپارتات اگزالواستات در حضور ۲-اگزوگلوتارات و تولید اگزالواستات وگلوتامات است. این آنزیم نیز با روش Thomas (1998) و با استفاده از کیت شرکت زیست‌کم (تهران، ایران) اندازه‌گیری شد. ابتدا ۵۰ میکرولیتر معرف A با ۱۰ میکرولیتر معرف D به مدت پنج دقیقه انکوبه شدند، سپس نمونه‌ی آنزیمی، اضافه‌شده (در بلانک به جای آنزیم ۱۰ میکرولیتر معرف E ریخته شد) و پس از یک ساعت ۵۰ میکرولیتر معرف C به آن اضافه شد. بیست دقیقه‌ی بعد، ۱۰۰ میکرولیتر هیدروکسید سدیم ۰/۴ نرمال اضافه شده و پس از پنج دقیقه، جذب در طول موج ۳۴۰ نانومتر با دستگاه میکروپلیت‌ریدر ثبت شد.

اندازه‌گیری فعالیت گاما گلوتامیل‌ترانسفراز

فعالیت گاماگلوتامیل‌ترانسفراز با استفاده از روش Szasz (1976) و کیت زیست‌کم (تهران، ایران) اندازه‌گیری شد. ۵۰ میکرولیتر از معرف اول با پنج میکرو-لیتر نمونه به مدت پنج دقیقه انکوبه شدند و به آن‌ها ۲۵ میکرولیتر از معرف دوم اضافه شد. جذب پس از سه دقیقه در طول موج ۴۰۵ نانومتر با دستگاه میکروپلیت‌ریدر بررسی شد.

اندازه‌گیری فعالیت لاکتات‌دهیدروژناز

میزان فعالیت لاکتات‌دهیدروژناز با استفاده از روش King (1965) و کیت شرکت زیست کم (تهران، ایران) اندازه‌گیری شد. سپس ۱۰ میکرولیتر نمونه‌ی آنزیمی به ۵۰ میکرولیتر از معرف اول اضافه شد و به مدت پنج دقیقه انکوبه شدند، سپس معرف دوم اضافه شد و پس از یک دقیقه،

جذب در طول موج ۳۴۰ نانومتر با دستگاه میکروپلیت‌ریدر قرائت شد.

اندازه‌گیری فعالیت اسید فسفاتاز و آلکالین فسفاتاز

برای اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم‌ها از روش ارائه‌شده به وسیله‌ی Bessey et al. (1946) استفاده شد. اندازه‌گیری این آنزیم‌ها بر اساس هیدرولیز نیتروفنیل‌فسفات به وسیله‌ی آنزیم آلکالین‌فسفاتاز و در نهایت تولید نیتروفنیل انجام شد. بدین ترتیب که به ۵۰ میکرولیتر بافر تریس (۲۰ میلی‌مولار) اسیدیته‌ی ۸، ۳۰ میکرولیتر سوبسترا و ۲۰ میکرولیتر از نمونه‌ها اضافه شد. در مورد اسید فسفاتاز، به ۵۰ میکرولیتر بافر تریس (۲۰ میلی‌مولار) اسیدیته‌ی ۵، ۳۰ میکرولیتر زیرنهشت اضافه شد و فعالیت آنزیم اسید فسفاتاز با اضافه‌کردن نمونه ثبت شد. پس از یک دقیقه فعالیت این آنزیم‌ها در طول موج ۴۰۵ نانومتر با دستگاه میکروپلیت‌ریدر خوانده شد.

بررسی تأثیر کودهای مختلف بر اجسام ذخیره‌ای کفشدوزک، *A. bipunctata*

اندازه‌گیری میزان پروتئین

سنجش پروتئین با روش Lowry et al. (1951) با استفاده از کیت شرکت زیست‌کم (تهران، ایران) بوده و میزان جذب آن با استفاده از دستگاه میکروپلیت‌ریدر در ۵۴۵ نانومتر بررسی شد.

اندازه‌گیری میزان تری‌گلیسرید

برای اندازه‌گیری تری‌گلیسرید از روش Fossati and Prencipe (1982) استفاده شد. بدین ترتیب که ۱۰۰ میکرولیتر معرف و ۲۰ میکرولیتر از محلول رونشین حاصل از سانتریفیوژ درمیکرو پلیت ریخته شد و بعد از ۱۰ دقیقه در دمای ۳۵ درجه‌ی سلسیوس انکوبه شدند و سپس جذب آن در طول موج ۵۴۵ نانومتر با دستگاه میکروپلیت‌ریدر قرائت شد.

اندازه‌گیری میزان گلیکوژن

برای سنجش گلیکوژن ابتدا به نمونه‌ی داخل میکروتیوب ۵۰۰ میکرولیتر پتاسیم هیدروکسید/ سدیم سولفات اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در بن‌ماری جوشانده شد. سپس نمونه‌ها ورتکس شده و روی یخ نگه‌داری شدند. برای حذف تمام اثرات قند، ۲۰۰ میکرولیتر اتانول ۹۵ درصد به نمونه‌ها اضافه شد و دوباره نمونه‌ها ورتکس شده و به مدت ۳۰ دقیقه روی یخ انکوبه شدند. نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. محلول رونشین هر میکروتیوب، حذف و پس از خشک‌شدن ته‌نشین، با اضافه کردن ۵۰۰ میکرو لیتر آب مقطر به هر نمونه، ورتکس انجام شد. سپس به هر یک از نمونه‌ها، ۱۰۰ میکرولیتر فنول ۵ درصد اضافه شد و ۵۰ میکرو لیتر از نمونه با ۹۵۰ میکرولیتر آب مقطر حل شده و به مدت ۳۰ دقیقه روی ظرف یخ انکوبه شدند. در نهایت در هر چاهک، ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه‌ها ریخته شده و میزان جذب در طول موج ۴۹۲ نانومتر با دستگاه میکروپلیت‌ریدر ثبت شد. غلظت‌های گلیکوژن استفاده‌شده برای سنجش منحنی استاندارد گلیکوژن، ۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میکروگرم گلیکوژن بر میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آب مقطر بودند (Chun & Yin, 1998).

تجزیه‌ی داده‌ها

قبل از تجزیه‌ی داده‌ها، آزمون نرمال‌بودن آن‌ها با استفاده از آزمون کلموگوروف- اسمیرنوف انجام شد. نتایج حاصل از اثر تیمارهای مختلف کود روی آزمایش‌های فیزیولوژیکی کفشدوزک شکارگر با استفاده از روش تجزیه‌ی واریانس یک طرفه (ANOVA, one way) با نرم‌افزار آماری MINITAB نسخه‌ی ۱۶ تجزیه شد. در صورت معنی‌دار شدن اختلاف، میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی (HSD) در سطح احتمال پنج درصد مورد مقایسه قرار گرفت.

نتایج

تأثیر تیمارهای کودی مختلف روی آنزیم‌های گوارشی کفشدوزک، *A. bipunctata*

بین فعالیت‌های پروتئاز کل، سرین پروتئازها و سیستئین پروتئازهای کفشدوزک *A. bipunctata* پرورش‌یافته روی شته‌های تغذیه‌کننده از گیاه فلفل‌دلمه‌ای تیمارشده با کودهای

مختلف تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۱). کم‌ترین میزان فعالیت پروتئاز کل کفشدوزک *A. bipunctata* روی شاهد در مقایسه با سایر تیمارها مشاهده شد. بیش‌ترین و کم‌ترین میزان فعالیت تریپسین کفشدوزک *A. bipunctata* به ترتیب روی تیمار سولفات روی و شاهد ثبت گردید؛ در حالیکه با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری وجود ندارد.

بیش‌ترین میزان فعالیت الاستاز کفشدوزک روی تیمار *B. subtilis* نسبت به سایر تیمارها مشاهده شد. بیش‌ترین و کم‌ترین میزان فعالیت کاتپسین B در کفشدوزک *A. bipunctata*، به ترتیب روی تیمارهای *B. subtilis* و ورمی‌کمپوست ۳۰ درصد مشاهده گردید؛ در حالی‌که با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. همچنین، بیش‌ترین میزان فعالیت کاتپسین L در تیمار *B. subtilis* و کم‌ترین میزان آن روی تیمار ورمی‌کمپوست ۳۰ درصد و شاهد به‌دست آمد. در جدول ۲، بیش‌ترین میزان فعالیت آلفا آمیلاز *A. bipunctata* در تیمارهای سولفات روی و *B. subtilis* نسبت به شاهد و ورمی‌کمپوست ۳۰ درصد مشاهده گردید. کم‌ترین میزان فعالیت لیپاز کفشدوزک *A. bipunctata*، در تیمار *B. subtilis* نسبت به سایر تیمارها بدست آمد. بیش‌ترین و کم‌ترین میزان لیپوپروتئین با چگالی کم (LDL) در کفشدوزک دو نقطه‌ای به ترتیب روی شاهد و تیمار *B. subtilis* مشاهده شد؛ در حالیکه با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. کم‌ترین فعالیت لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL) در شاهد و تیمار سولفات روی و بیش‌ترین میزان آن در تیمار *B. subtilis* ثبت گردید (جدول ۲).

تأثیر تیمارهای کودی مختلف بر متابولیسم حد واسط کفشدوزک، *A. bipunctata*

بین فعالیت‌های آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین‌آمینوترانسفراز (ALT) و گاما- گلوتامیل‌ترانسفراز (γ- GT) کفشدوزک دو نقطه‌ای پرورش‌یافته روی شته‌های تغذیه‌کننده از گیاه فلفل‌دلمه‌ای تیمارشده با کودهای مختلف تفاوت معنی‌داری وجود داشت (جدول ۳). بیش‌ترین و کم‌ترین فعالیت آسپارتات‌آمینوترانسفراز (AST) به ترتیب روی تیمارهای *B. subtilis* و ورمی‌کمپوست ۳۰ درصد ثبت گردید؛ در حالیکه با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. بیش‌ترین میزان فعالیت آلانین‌آمینو-ترانسفراز (ALT) کفشدوزک دو نقطه‌ای در تیمار *B. subtilis* نسبت به سایر تیمارها مشاهده شد. همچنین، کم‌ترین میزان فعالیت گاما گلوتامیل‌ترانسفراز در شاهد ثبت گردید و بین سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۳).

بین فعالیت‌های آلکالین‌فسفاتاز (ALP)، اسید فسفاتاز (ACP) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) کفشدوزک دو نقطه‌ای پرورش‌یافته روی شته‌های تغذیه‌کننده از گیاه فلفل دلمه‌ای تیمارشده با کودهای مختلف تفاوت معنی‌داری وجود داشت (جدول ۴). بیش‌ترین و کم‌ترین فعالیت‌های آلکالین-فسفاتاز (ALP) و اسید فسفاتاز (ACP) کفشدوزک به ترتیب در *B. subtilis* و ورمی‌کمپوست ۳۰ درصد مشاهده گردید؛ در حالی‌که با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. همچنین، بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم لاکتات‌دهیدروژناز در تیمار ورمی‌کمپوست ۳۰ درصد و شاهد به دست آمد.

تأثیر تیمارهای کودی مختلف روی ترکیبات ذخیره‌ای کفشدوزک *A. bipunctata*

تفاوت معنی‌داری در میزان پروتئین، تری‌گلیسرید (TAG) و گلیکوژن کفشدوزک *A. bipunctata* روی تیمارهای مختلف ثبت شد (جدول ۵). کفشدوزک دو نقطه‌ای پرورش‌یافته روی شته‌های تغذیه کرده از گیاه تیمار شده با *B. subtilis* بیش‌ترین میزان پروتئین، تری‌گلیسرید و گلیکوژن را در مقایسه با سایر تیمارها داشتند (جدول ۵). همچنین، کم‌ترین میزان تری‌گلیسرید و گلیکوژن کفشدوزک دو نقطه‌ای در تیمار ورمی‌کمپوست ۳۰ درصد مشاهده شد؛ در حالیکه با سولفات روی و شاهد تفاوت معنی‌داری وجود ندارد.

جدول ۱- میانگین (± خطای معیار) فعالیت پروتئاز کل و پروتئازهای ویژه‌ی کفشدوزک *A. bipunctata* پرورش‌یافته روی شته‌های تغذیه‌کننده از گیاه فلفل‌دلمه‌ای تیمارشده با کودهای مختلف

Table 1. Mean (±SE) of total protease activity and specific proteases of ladybird *A. bipunctata* reared on aphids fed on the bell pepper plant treated with different fertilizers

Fertilizer treatments	Statistics (Mean±SE)				
	Total Protease	Trypsin	Elastase	Cathepsin B	Cathepsin L
Control	0.108±0.030b*	0.760±0.374b	0.837±0.129b	0.615±0.088ab	0.140±0.018b
Vermicomposts (30%)	0.684±0.066a	2.01±0.362ab	1.344±0.300b	0.373±0.032b	0.163±0.064b
Zinc sulfate	0.598±0.059a	2.61±0.409a	1.195±0.315b	0.892±0.262ab	0.353±0.137ab
Bacillus subtilis	0.529±0.087a	1.88±0.226ab	3.076±0.202a	1.905±0.543a	0.445±0.148a
df	3, 11	3, 11	3, 11	3, 11	3, 11
F	15.94	5.18	16.19	4.87	6.25
P	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

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

جدول ۲ - میانگین (± خطای معیار) فعالیت‌های آمیلاز، لیپاز و لیپوپروتئین کفشدوزک، *A. bipunctata* پرورش‌یافته روی شته‌های تغذیه‌کننده از گیاه فلفل‌دلمه‌ای تیمارشده با کودهای مختلف

Table 2. Mean (±SE) of amylase, lipase and lipophorin activities of ladybird, *A. bipunctata* reared on aphids fed on the bell pepper plants treated with different fertilizers

Fertilizer treatments	Statistics (Mean±SE)			
	Amylase	Lipase	LDL	HDL
Control	0.892±0.216b*	6.762±0.867a	0.541±0.208a	0.164±0.341c
Vermicomposts (30%)	0.328±0.251b	4.400±0.462ab	0.367±0.090ab	0.811±0.174b
Zinc sulfate	1.081±0.820a	5.619±0.252a	0.383±0.092ab	0.189±0.026c
Bacillus subtilis	1.087±0.347a	3.571±0.660b	0.145±0.032b	1.422±0.323a
df	3, 11	3, 11	3, 11	3, 11
F	14.48	3.26	10.11	7.57
P	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

*Means followed by different letters in the same column are significantly different (HSD, *P*<0.05). LDL, Low density lipophorin; and HDL, high density lipophorin.

جدول ۳- میانگین (± خطای معیار) فعالیت‌های آمینوترانسفرازهای کفشدوزک *A. bipunctata* پرورش‌یافته روی شته‌های تغذیه کننده از گیاه فلفل‌دلمه‌ای تیمارشده با کودهای مختلف

Table 3. The mean (±SE) aminotransferases activities of ladybird *A. bipunctata* reared on aphids fed on the bell pepper treated with various fertilizers

Fertilizer treatments	Statistics (Mean±SE)		
	AST	ALT	γ- GT
Control	0.753±0.122ab*	0.647±0.231b	0.122±0.011b
Vermicomposts (30%)	0.129±0.052b	0.886±0.303b	2.342±0.176a
Zinc sulfate	0.846±0.173ab	0.716±0.152b	1.928±0.273a
Bacillus subtilis	0.905±0.088a	1.032±0.067a	1.708±0.406a
df	3, 11	3, 11	3, 11
F	4.33	8.65	4.56
P	<0.01	<0.01	<0.01

*Means followed by different letters in the same column are significantly different (HSD, *P*<0.05). AST, aspartate amino transferase; ALT, alanine amino transferase, and γ -GT, γ -glutamyl transferase.

جدول ٤- میانگین (± خطای معیار) فعالیت‌های ترانس فسفاتازها و لاکتات‌دهیدروژناز کفشدوزک *A. bipunctata* پرورش‌یافته روی شته‌های تغذیه‌کننده از گیاه فلفل‌دلمه‌ای تیمارشده با کودهای مختلف

Table 4. Mean (±SE) activities of transphosphatases and lactate dehydrogenase of ladybird, *A. bipunctata* reared on aphids fed on the bell pepper treated with different fertilizers

Fertilizer treatments	Statistics (Mean±SE)		
	ALP	ACP	LDH
Control	1.554±0.221ab*	1.886±0.391ab	1.647±0.231a
Vermicomposts (30%)	0.776±0.176b	0.891±0.041b	1.886±0.303a
Zinc sulfate	1.480±0.172ab	1.714±0.182ab	0.716±0.152b
Bacillus subtilis	1.865±0.242a	1.911±0.145a	0.531±0.066b
df	3, 11	3, 11	3, 11
F	5.90	5.30	14.00
P	<0.01	<0.01	<0.01

*Means followed by different letters in the same column are significantly different (HSD, *P*<0.05). LDH; lactate dehydrogenase.

جدول ٥- میانگین (± خطای معیار) ترکیبات ذخیره‌ای اجسام چربی کفشدوزک، *A. bipunctata* پرورش‌یافته روی شته‌های تغذیه‌کننده از گیاه فلفل‌دلمه‌ای تیمارشده با کودهای مختلف

Table 5. Mean (±SE) storage compositions of ladybug fat bodies, *A. bipunctata* reared on aphids feeding on the bell pepper plants treated with different fertilizers

Fertilizer treatments	Statistics (Mean±SE)		
	Protein	TAG	Glycogen
Control	0.107±0.031b*	0.208±0.023ab	0.519±0.032ab
Vermicomposts (30%)	0.684±0.066b	0.146±0.007b	0.393±0.037b
Zinc sulfate	0.599±0.060b	0.212±0.014ab	0.677±0.082ab
Bacillus subtilis	0.530±0.087a	0.339±0.009a	0.962±0.032a
Df	3, 11	3, 11	3, 11
F	7.04	4.62	12.46
P	<0.01	<0.01	<0.01

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

بحث

تولید غذای سالم و عاری از مواد شیمیایی به‌ویژه سبزیجات سالم (از جمله فلفل¬دلمه¬ای) یکی از تقاضاهای اصلی مصرف‌کنندگان در جوامع امروزی است. یکی از راه‌کارهای کاهش مصرف آفت‌کش‌های زیان‌آور کاربرد روش¬های غیر¬شیمیایی مختلف از جمله استفاده از کودهای آلی و زیستی می¬باشد. تحقیقات مختلف نشان داده که استفاده از کودهای آلی و زیستی نسبت به کودهای شیمیایی می‌تواند اثرات مثبتی بر مشخصات رشدی گیاه و به تبع آن اثرات منفی روی ویژگی¬های زیستی و فیزیولوژیکی حشرات مکنده داشته باشند (Mardani-Talaee et al., 2016a, b؛ Alizamani et al., 2020؛ Pourya et al., 2021).

بنابراین، کوددهی گیاهان سازگاری اکولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه‌خواران، دشمنان طبیعی و پارازیتوئیدها را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد (Schädler et al., 2010). براساس نتایج به دست آمده از این تحقیق، تیمارهای مختلف کودی به طور غیرمستقیم تأثیر معنی‌داری روی ویژگی‌های فیزیولوژیکی کفشدوزک دو نقطه‌ای نشان دادند.

هیدرولیز پیوندهای پپتیدی در حشرات بر عهده گروهی از آنزیم‌ها موسوم به پروتئازها است. توانایی

پروتئازها در هیدرولیز پیوندهای پپتیدی با یکدیگر متفاوت است. این آنزیم‌ها دو نقش عمده را ایفا می‌کنند، ۱) شکستن پروتئین‌ها به آمینواسید به عنوان ترکیبات ضروری برای نشوونما ۲) غیر فعال‌کردن پروتئین‌های سمی هضم‌شده در طول فرآیند تغذیه (Nation, 2008). سرین پروتئازها (از جمله تریپسین، کیمو تریپسن و الاستاز) به طور گسترده‌ای در همه مهره‌داران و بی‌مهرگان وجود دارند (Krem & Di Cera, 2001). در مطالعه‌ی حاضر، بیش‌ترین میزان فعالیت کاتپسین‌های B و L کفشدوزک *A. bipunctata* مربوط به تیمار *B. subtilis* و کم‌ترین آن‌های روی تیمارهای کود آلی ورمی‌کمپوست ۳۰ درصد و شاهد بدست آمد. افزایش فعالیت پروتئازها در حشرات به دلیل نیاز به تامین انرژی است (Nation, 2008). همچنین افزایش فعالیت این آنزیم‌ها می‌تواند ارتباط مستقیمی با ویژگی‌های شیمیایی طعمه داشته باشد. کمیت و کیفیت پروتئین‌های موجود در طعمه، نوع و فعالیت آنزیم‌های گوارشی شکارگرها را تغییر می‌دهد. در بررسی آنزیم‌های گوارشی، میزان فعالیت بیوشیمیایی یا حتی بیان ژن‌های مرتبط می‌تواند نشان‌دهنده مناسب بودن طعمه یا کارایی شکارگر باشد (Pascual-Ruiz et al., 2009). در پژوهشی Walker et al. (1998) گزارش کردند که سیستئین پروتئازها (کاتپسین‌های B و L)، آنزیم‌های غالب در معده لاروها و حشرات بالغ کفشدوزک دو نقطه‌ای هستند. نتایج آن‌ها نشان می‌دهد که فرآیند هضم کفشدوزک دو نقطه‌ای ممکن است از طریق مهارکننده‌های سیستئین پروتئیناز بیان شده در گیاهان تراریخته برای کنترل آفات، از طریق برهم‌کنش سه سطحی بین کفشدوزک‌ها، شته‌ها و گیاهان زراعی تحت تأثیر قرار گیرد. بنابراین، دلیل بالابودن فعالیت کاتپسین‌های B و L می تواند رابطه مستقیمی با حجم بالایی از مواد پروتئینی خورده شده در طعمه و عدم تاثیر مهار کننده‌ها و ترکیبات ثانویه‌ی حاصل از کودهای زیستی بر آنزیم‌های گوارشی شکارگر باشد.

کربوهیدرات‌ها به عنوان منبع تولید انرژی در بیشتر حشرات مطرح هستند که به صورت گلیکوژن و تری‌هالوز در همولمف، اجسام چربی و بافت معده ذخیره می‌شوند. کربوهیدرات‌ها یا به چربی تبدیل شده و یا ممکن است در تولید پروتئین سهیم باشند (Nation, 2008). آلفا- آمیلاز در برگیرنده خانواده‌ای از اندوآمیلازها هستند که نقش محوری در متابولیسم کربوهیدرات‌های وابسته انجام می‌دهند و با افزایش میزان تغذیه و هضم غذا، فعالیت آلفا- آمیلاز افزایش می‌یابد. میزان فعالیت آلفا- آمیلاز در مراحل مختلف نشوونما را می‌توان به عواملی هم‌چون نوع و میزان تغذیه نسبت داد (Horie & Watanabe, 1980). در تحقیق حاضر، بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم آلفا- آمیلاز کفشدوزک *A. bipunctata* مربوط به تیمارهای سولفات روی و *B. subtilis* در مقایسه با سایر تیمارها بود. افزایش فعالیت آلفا آمیلاز می‌تواند در ارتباط با تاثیر ترکیبات طعمه مورد نظر (شته) در برگیرنده‌ی این آنزیم باشد، که با تاثیر بر سلول‌های پوششی لوله گوارشی، میزان ترشح این آنزیم به معده‌میانی را افزایش و یا کاهش می‌دهد (Terra & Ferreira, 2005).

آنزیم لیپاز باعث شکسته‌شدن پیوندهای کربوکسیل استر در تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها، فسفولیپیدها و گالاکتولیپیدها می‌شود. این گروه از آنزیم‌ها در ذخیره‌سازی، مصرف و تحرک لیپیدها در حشرات نقش اساسی دارند. هم‌چنین لیپازها زیر بنای بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی حشرات مانند نشوونما، تولید مثل و دفاع در مقابل پاتوژن‌ها هستند (Terra & Ferreira, 2005). در پژوهش حاضر، کم‌ترین میزان فعالیت لیپاز کفشدوزک *A. bipunctata* روی تیمار *B. subtilis* نسبت به سایر تیمارها بدست آمد. کاهش فعالیت این آنزیم در بدن می‌تواند به دلیل تجمع لیپید به شکل تری‌آسیل‌کلسترول در اجسام چربی باشد (Nation, 2008). همچنین همانطور که مشاهده شد میزان فعالیت پروتئازهای ویژه در این تیمار نیز افزایش‌یافته، پس می‌توان چنین نتیجه

گرفت که کفشدوزک شکارگر، انرژی مورد نیاز خود را با شکستن قندهای ذخیره‌ای در بدن تامین می‌کند.

لیپوپروتئین‌ها شامل چهار گروه مهم هستند که بر اساس اندازه شامل لیپوپروتئین با چگالی بسیار کم، لیپوپروتئین با چگالی متوسط، لیپوپروتئین با چگالی کم و لیپوپروتئین با چگالی زیاد می‌باشند. این مولکول‌ها می‌توانند لیپیدهایی مانند کلسترول، فسفولیپید و تری‌گلیسریدها را درون مایع بین‌سلولی انتقال دهند (Kwiterovich, 2000; Terra & Ferreira, 2005). در حشرات، لیپوپروتئین با چگالی زیاد، مونو و دی‌آسیل گلیسرول‌ها را از معده‌ی میانی به اجسام چربی منتقل می‌کند، در حالی‌که لیپوپروتئین با چگالی کم، این مولکول‌ها را برای تولید انرژی از اجسام چربی به بافت‌ها منتقل می‌کند (Nation, 2008). در پژوهش حاضر، بیش‌ترین مقدار لیپوپروتئین با چگالی زیاد و همچنین کم‌ترین و لیپوپروتئین با چگالی کم در کفشدوزک *A. bipunctata* روی تیمار *B. subtilis* بدست آمد. این نتایج نشان می‌دهند که در کفشدوزک شکارگر در تیمار *B. subtilis* تغییراتی در مورد هضم چربی‌ها و انتقال آن‌ها از معده به اجسام چربی اتفاق افتاده که افزایش میزان لیپوپروتئین با چگالی زیاد می‌تواند بیان‌گر در دسترس بودن لیپید برای ذخیره‌سازی در اجسام چربی باشد. بیش‌ترین میزان لیپوپروتئین با چگالی کم در کفشدوزک شکارگر دو نقطه‌ای مربوط به شاهد بود، گرچه با تیمارهای سولفات روی و ورمی‌کمپوست ۳۰ درصد تفاوت معنی‌داری نداشت. این نتایج می‌تواند نشان‌دهنده‌ی افزایش نیاز به انرژی است که احتمالا در نتیجه‌ی این نیازمندی، تأمین انرژی از گلیکولیز به بتااکسیداسیون واگذار شده تا انرژی مورد نیاز حشره را تأمین کند (Mardani-Talaee et al., 2015).

متابولیسم حد واسطه‌ای در حشرات یک فرآیند پیچیده‌ای است که در آن چندین مسیر آنزیمی و غیر آنزیمی برای تأمین انرژی مورد نیاز فعالیت‌های زیستی از قبیل پرواز، تولیدمثل و غیره وجود دارد. متابولیسم حد واسط روی فعالیت‌های انتقال اسیدآمینه‌ها برای تأمین انرژی، اکسیداسیون چربی، متابولیسم آب، چرخه‌ی گلیکولیز و چرخه‌ی کربس نقش دارند (Terra & Ferreira, 2005). در مطالعه‌ی حاضر، بیش‌ترین مقدار فعالیت‌های آسپارتات‌آمینوترانسفراز (AST)، آلکالین‌فسفاتاز (ALP) و اسید فسفاتاز (ACP) در کفشدوزک *A. bipunctata* روی تیمار *B. subtilis* بدست آمد. افزایش فعالیت این آنزیم‌ها احتمالاً نشان‌دهنده‌ی توانایی میزان هضم، جذب و همچنین انتقال مثبت مواد غذایی از دستگاه گوارش به همولمف و اجسام چربی و بالعکس است (Nation, 2008). از سوی دیگر، بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم لاکتات‌دهیدروژناز (LDH) کفشدوزک شکارگر *A. bipunctata* در تیمار ورمی‌کمپوست ۳۰ درصد مشاهده شد. در پژوهش قبلی مشاهده شد که بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم لاکتات‌دهیدروژناز مربوط به شته‌های تغذیه‌کننده از ورمی‌کمپوست ۳۰ درصد بود (Mardani-Talaee et al., 2016b). افزایش فعالیت لاکتات دهیدروژناز در کفشدوزک شکارگر تغذیه‌کننده از شته‌های پرورش‌یافته روی تیمار ورمی‌کمپوست ۳۰ درصد و شاهد می‌تواند نشان دهنده تأمین انرژی در آخرین مرحله‌ی گلیکولیز پیرووات را به لاکتات و برعکس باشد. همچنین نتایج پژوهش گذشته Mardani- Talaee et al. (2016b) نشان داد که کود ورمی‌کمپوست ۳۰ درصد به طور معنی‌داری سبب افزایش میزان برخی از متابولیت ثانویه در گیاه فلفل‌دلمه‌ای و کاهش میزان کارایی فیزیولوژیکی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی شته سبز هلو شد. بنابراین، افزایش فعالیت لاکتات دی هیدروژناز نیز می‌تواند بیان‌گر آسیب وارد شده به بافت دستگاه گوارش به دلیل افزایش سطح متابولیت‌های ثانویه‌ی گیاه فلفل‌دلمه‌ای بوده که به نوبه‌ی خود توانسته روی شته اثر گذاشته و متقابلا روی دشمن

طبیعی تأثیر گذار باشد (Selin-Rani et al., 2016; Mardani- Talaee et al., 2016a, b). علاوه بر این، مطالعه‌ی پیشین نشان داد که تیمار ورمی‌کمپوست ۳۰ درصد باعث افزایش غلظت متابولیت‌های ثانویه شده و این ترکیبات روی فعالیت آنزیمی سوسک کلرادو سیب‌زمینی، (Say) *Leptinotarsa decemlineata*، تأثیر منفی داشته است (Mardani-Talaee et al., 2015).

حشرات بخشی از انرژی مورد نیاز خود را از ترکیبات ذخیره‌ای از قبیل پروتئین، تری‌گلیسرید و گلیکوژن دریافت می‌کنند. چربی‌ها منابع مهم انرژی متابولیکی برای حفظ و نگهداری سلول‌ها، تولیدمثل، نشوو نما جنین و دگردیسی هستند. چربی‌ها دارای کارکردهای ویژه‌ای هستند. برای مثال اسیدهای چرب، فسفولیپیدها و استرول‌ها از اجزای مهم دیواره‌ی سلولی هستند (Nation, 2008). گلیکوژن، قند ذخیره‌ای در اجسام چربی حشرات می‌باشد که از واحدهایی بنام گلوکز تشکیل‌شده و به صورت منشعب ذخیره شده و انرژی لازم برای ماهیچه‌های پروازی و تولید مثل را فراهم می‌کند (Terra & Ferreira, 2005; Klowden, 2007). در تحقیق حاضر، کفشدوزک *A. bipunctata* پرورش‌یافته روی شته‌های تغذیه کرده از گیاه تیمارشده با *B. subtilis*، بیش‌ترین میزان پروتئین، تری‌گلیسرید و گلیکوژن را در مقایسه با سایر تیمارها داشتند. کم‌ترین مقدار گلیکوژن کفشدوزک پرورش‌یافته روی شته‌های تغذیه کرده از گیاه تیمارشده با تیمار ورمی‌کمپوست می‌تواند به سبب شکسته‌شدن گلیکوژن در اجسام چربی و انتشار آن به بافت مورد نظر برای تامین انرژی صورت می‌گیرد (Mardani-Talaee et al., 2015).

پژوهش‌های پیشین نشان دادند که تیمارهای مختلف کودهای آلی، زیستی و شیمیایی روی ویژگی‌های رشدی گیاه میزبان (فلفل‌دلمه‌ی) تأثیر گذار بوده که این تغییرات، فراسنجه‌های زیستی و فیزیولوژیکی شته سبز هلو را تحت تأثیر قرار دادند (Mardani-Talaee et al., 2016a, b, 2017). از سوی دیگر طعمه‌های پرورش‌یافته روی گیاه فلفل‌دلمه‌ای تیمار شده با کودهای مختلف بر ویژگی‌های زیستی، تغذیه‌ای و فیزیولوژیکی دشمن طبیعی (کفشدوزک) نیز تأثیر گذار می‌باشند. وجود اختلاف معنی‌دار در فعالیت‌های آنزیمی کفشدوزک *A. bipunctata* پرورش‌یافته روی شته‌های تغذیه کرده از فلفل‌دلمه‌ای تیمارشده با کودهای مختلف آلی، زیستی و شیمیایی نشان می‌دهد که نوع تیمار کود می‌تواند ارزش غذایی گیاه را تغییر داده و به نوبه‌ی خود اثرات معنی‌داری روی فراسنجه‌های زیستی و تغذیه‌ای طعمه و شکارگر داشته باشند. بنابراین، نتایج فراسنجه‌های فیزیولوژیکی مورد مطالعه در این تحقیق، نشان از مطلوب‌بودن کود زیستی باکتریایی *B. subtilis* نسبت به تیمارهای دیگر برای کفشدوزک شکارگر داشت که می‌تواند همراه با عوامل بیولوژیکی در جهت مدیریت تلفیقی شته سبز هلو استفاده گردد.

سپاس‌گزاری

نویسندگان از تحصیلات تکمیلی گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه محقق اردبیلی و دانشگاه گیلان بابت همکاری‌های لازم برای انجام این تحقیق کمال تشکر را دارند.

REFERENCES

Alizamani, T., Shakarami, J., Mardani-Talaee, M., Zibaee, A. & Serrao, J. E. (2020). Direct interaction between micronutrients and bell pepper (*Capsicum annum* L.), to affect fitness of *Myzus persicae* (Sulzer). *Journal* of *Plant Protection Research*, 60, 253–262. DOI: https://doi.org/10.24425/jppr.2020.133319

Bernfeld, P. (1955). Amylases, α and β. *Methods in Enzymology*, 1, 149–158. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/0076-6879(55)01021-5

Bessey, O. A., Lowry, O. H. & Brock, M.J. (1946). A method for the rapid determination of alkaline phosphatase with five cubic millimeters of serum. *The Journal of Biological Chemistry*, 164, 321–329.

Chun, Y. & Yin, Z. D. (1998). Glycogen assay for diagnosis of female genital Chlamydia trachomatis infection. *Journal of Clinical Microbiol*ogy, 36, 1081–1082. DOI: 10.1128/JCM.36.4.1081-1082.1998

Chavez-Mendoza, C.; Sánchez, E.; Carvajal-Millán, E.; Muñoz-Márquez, E. & Guevara-Aguilar, A. (2013). Characterization of the nutraceutical quality and antioxidant activity in bell pepper in response to grafting. *Molecules*, 18, 15689–15703. DOI: 10.3390/molecules181215689.

De Clercq, P., Bonte, M., Van Speybroeck, K., Bolckmans, K. & Deforce, K. (2005). Development and reproduction of *Adalia bipunctata* (Col., Coccinellidae) on eggs of *Ephestia kuehniella* (Lep.: Phycitidae) and pollen. *Pest Management Science*, 61, 1129–1132. DOI: 10.1002/ps.1111.

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 Physiology*, 48, 206–216. DOI: https://doi.org/10.1002/arch.10000.

Ferreira, C. & Terra, W. R. (1983). Physical and kinetic properties of a plasma- membrane-ound *P*- Dglucosidase (cellobiase) from midgut cells of an insect *Rhynchosciara americana* larva. *Biochemical Journal*, 213, 43–51. DOI: 10.1042/bj2130043.

Fossati, P. & Prencipe, L. (1982). Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clinical Chemistry*, 28, 2077–2080.

Frantz, D. J., Gardner, J., Hoffmann, P. M. & Jahn, M. M. (2004). Greenhouse screening of Capsicum accessions for resistance to green peach aphid (*Myzus persicae*). *Horticultural Science*, 39, 1332–1335. DOI: https://doi.org/10.21273/HORTSCI.39.6.1332.

Gadhave, K. R., Finch, P., Gibson, T. M. & Gange, A. C. (2016). Plant growthpromoting Bacillus suppress *Brevicoryne brassicae* field infestation and trigger density- dependent and density- independent natural enemy responses. *Journal of Pest Science*, 89, 985–992. DOI 10.1007/s10886-016-0689-8.

Gruden, K., Strukelj, B., Popovic, T., Lenarcic, B., Berec, T., Brzin, J., Kregar, I., Velikonja, J. H., Stiekema, W. J., Bosch, D. & Jongsma, M. A. (1998). The cystein protease activity of Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* (Say) guts, which is insensitive to potato protease inhibitors, is inhibited by thyroglobulin type- 1 domain inhibitors. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 28, 549–560.

Harun-Or-Rashid, M. D. & Chung, R. Y. (2017). Induction of Systemic Resistance against Insect Herbivores in Plants by Beneficial Soil Microbes. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1816. DOI: https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01816.

Heinen, R., Biere, A., Harvey, A. J. & Bezemer, M. T. (2018). Effects of Soil Organisms on Aboveground Plant-Insect Interactions in the Field: Patterns, Mechanisms and the Role of Methodology. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 6, 106. DOI: https://doi.org/10.3389/fevo.2018.00106.

Horie, Y. & Watanabe, H. (1980). Recent advances in sericulture. *Annual Review of Entomology*, 25, 49–71.

Khosa, S. S., Younis, A., Rayit, A., Yasmeen, S. & Riaz, A. (2011). Effect of foliar application of macro and micro nutrients on growth and flowering of *Gerbera jamesonii* L. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 11, 736–757.

King, J. (1965). The dehydrogenases or oxidoreductases. Lactate dehydrogenase. In: van Nostrand, D. (Ed.), *Practical clinical enzymology*, (pp. 83–93) Elsevier, London.

Klowden, M. J. (2007). Physiological Systems in Insects. 2nd (Ed.), Elsevier, New York, 688 p.

Krem, M. M., & Di Cera, E. (2001). Molecular markers of serine protease evolution. *The EMBO journal*, *20*(12), 3036–3045. https://doi.org/10.1093/emboj/20.12.3036.

Kwiterovich, J. P. O. (2000). The metabolic pathways of high-density lipoprotein, low-density lipoprotein, and triglycerides: a current review. *American Journal of Cardiology*, 86, 5–10. DOI: doi: 10.1016/s0002-9149(00)01461-2.

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. DOI: https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6

Lucy, M., Reed, E. & Glick, B. R. (2004). Applications of free living plant growth promoting rhizobacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 86, 1–25. DOI: 10.1023/B:ANTO.0000024903.10757.6e.

Mardani- Talaee, M., Zibaee, A., Nouri- Ganbalani, G., Rahimi, V. & Tajmiri, P. (2015). Effect of vermicompost on nutrition and intermediary metabolism of Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae). *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 8, 623–645. DOI:10.1080/03235408.2015.1091154

Mardani-Talaee, M., Nouri-Ganblani, G., Razmjou, J., Hassanpour, M., Naseri, B. & Asgharzadeh, A., (2016a). Effects of chemical, organic and bio-fertilizers on some secondary metabolites in the leaves of bell pepper (*Capsicum annuum*) and their impact on life table parameters of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). *Journal of Economic Entomology*, 109, 1231-1240. DOI: 10.1093/jee/tov389.

Mardani-Talaee, M., Razmjou, J., Nouri-Ganblani, G., Hassanpour, M. & Naseri, B. (2017). Impact of Chemical, Organic and Bio-Fertilizers Application on Bell Pepper, *Capsicum annuum* L. and Biological Parameters of *Myzus persicae* (Sulzer) (Hem.: Aphididae). *Neotropical Entomology*, 46, 578–586. DOI: https://doi.org/10.1007/s13744-017-0494-2.

Mardani-Talaee, M., Zibaee, A., Nouri-Ganblani, G. & Razmjou, J. (2016b). Chemical and organic fertilizers affect physiological performance and antioxidant activities in *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). *Invertebrate Survival Journal*, 13, 122–133.

Megali, L., Schlau, B. & Rasmann, S. (2015). Soil microbial inoculation increases corn yield and insect attack. *Agronomy for Sustainable Development*, 35, 1511–1519. DOI: https://doi.org/10.1007/s13593-015-0323-0

Nation, J. L. (2008). Insect physiology and biochemistry, 2nd (Ed.), CRC press, London.

Noret, N., Josens, G., Escarré, J., Lefèbvre, C., Panichelli, S. & Meerts, P. (2007). Development of *Issoria lathonia* (Lepidoptera: Nymphalidae) on zinc-accumulating and nonaccumulating Viola species (Violaceae). *Environmental Toxicology* and *Chemistry*, 26, 565–571.

Oppert, B., Kramer, K. J. & Mc Gaughey, W. H. (1997). Rapid microplate assay of proteinase mixtures, *Journal of Biotechnology*, 23, 70–72. DOI: 10.2144/97231bm14.

Özgökçe, M. S., Chi, H., Atlıhan, R. & Kara, H. (2018). Demography and population projection of *Myzus persicae* (Sulzer.) (Hemiptera: Aphididae) on five pepper (*Capsicum annuum* L.) cultivars. *Phytoparasitica*, 46, 153–167. DOI: 10.1007/s12600-018-0651-0.

Pascual-Ruiz, S., Carrillo, L., Álvarez-Alfageme, F., Ruíz, M., Castañera, P. & Ortego, F. (2009). The effects of different prey regimes on the proteolytic digestion of nymphs of the spined soldier bug, *Podisus maculiventris* (Hemiptera: Pentatomidae). *Bulletin of Entomological Research*, 99(5), 487-491. Doi:10.1017/S0007485308006561

Pourya, M., Shakarami, J., Mardani-Talaee, M., Sadeghi, A. & Serrao, J. E. (2020). Induced resistance in wheat *Triticum aestivum* L. by chemical-and bio-fertilizers against English aphid *Sitobion avenae* (Fabricius) (Hemiptera: Aphididae) in greenhouse. *International Journal of Tropical Insect Science*, 40, 1043–1052. DOI: https://doi.org/10.1007/s42690-020-00164-1.

Pourya, M., Shakarami, J., Mardani-Talaee, M., Sadeghi, A. & Serrao, J. E. (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. DOI. https://doi.org/10.1016/j.aspen.2021.06.003

Razmjou, J., Mohammadi, M. & Hassanpour, M. (2011). Effect of vermicompost and cucumber cultivar on population growth attributes of the melon aphid (Hemiptera: Aphididae). *Journal of Economic Entomology*, 104, 1379–1383. DOI: https://doi.org/10.1603/EC10120.

Sarfraz, M., Dosdall, L. M. & Keddie, B. A. (2009a). Bottom-up effects of host plant nutritional quality on Plutella xylostella and top-down effects of herbivore attack on plant compensatory ability. *European Journal of Entomology*, 106, 583–594. DOI: 10.14411/eje.2009.073.

Sarfraz, M., Dosdall, L. M. & Keddie, B. A. (2009b). Host plant nutritional quality affects the performance of the parasitoid *Diadegma insulare*. *Biological control*, 51, 34–41. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2009.07.004.

Schaefer, E. J. & McNamara, J. (1997). Overview of the diagnosis and treatment of lipid disorders, In: Rifia, N., Warnick, G. R. & Dominiczak, M. H. *Handbook of lipoprotein testing*. (eds., pp 25–48) Washington: AACC press.

Schädler, M., Brandl, R. & Kempel, A. (2010). Host plant genotype determines bottom-up effects in an aphid-parasitoid-predator system. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 135, 162-169.

Selin-Rani, S., Senthil-Nathan, S., Revathi, K., Chandrasekaran, R., Thanigaivel, A., Vasantha-Srinivasan, P., Ponsankar, A., Edwin, E. S. & Pradeepa, V. (2016). Toxicity of *Alangium salvifolium* Wang chemical constituents against the tobacco cutworm *Spodoptera litura* Fab. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 126, 92–101. https://doi.org/ 10.1016/j.pestbp.2015.08.003.

Stoyanova, Z. & Doncheva, S. (2002). The effect of zinc supply and succinate treatment on plant growth and mineral uptake in pea plant. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 14, 111–116. DOI: 10.1590/S1677-04202002000200005.

Szasz, G. (1976). Reaction-rate method for gamma glutamyl transferase activity in serum. *Clinical Chemistry*, 22, 2051–2055. DOI: https://doi.org/10.1093/clinchem/22.12.2051.

Thomas, L. (1998). *Clinical laboratory diagnostic*, THBooks Verlasgesellschaft, (1th eds., pp 89–94) Frankfurt.

Terra, W. R. & Ferreira, C. (2005). *Biochemistry of digestion*. In: Lawrence, I. G., Kostas, I. & Sarjeet, S. G., Comprehensive Molecular Insect Science, (eds., pp 171-224), Elsevier, Oxford.

Tsujita, T., Ninomiya, H. & Okuda, H. (1989). P-nitrophenyl butyrate hydrolyzing activity of hormonesensitive lipase from bovine adipose tissue. *Journal of Lipid Research*, 30, 997–1004.

Valenzuela-Soto, J. H., Estrada-Hernández, M. G., Ibarra-Laclette, E. & DélanoFrier, J. P. (2010). Inoculation of tomato plants (*Solanum lycopersicum*) with growth-promoting Bacillus subtilis retards whitefly *Bemisia tabaci* development. *Planta*, 231, 397–410. DOI: 10.1007/s00425-009-1061-9.

Walker, A. J., Ford, L., Majerus, M. E. N., Geoghegan,I. E., Birch, N., Gatehouse, J. A. & Gatehouse A. M. R. (1998). Characterisation of the mid-gut digestive proteinase activity of

the two-spot ladybird (*Adalia bipunctata* L.) and its sensitivity to proteinase inhibitors. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 28, 173-180. https://doi.org/10.1016/S0965-1748(97)00114-8.

Wyss, E., Villiger, M., Hemptinne, J. L., Müller-Schärer, H. (1999). Effects of augmentative releases of eggs and larvae of the two- spot ladybird beetle, *Adalia bipunctata*, on the abundance of the rosy apple aphid, *Disaphis plantaginea*, in organic apple orchards. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 90, 167–173. DOI: https://doi.org/10.1046/j.1570-7458.1999.00435.x

© 2022 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/

Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)

45(1), Spring, 2022

10.22055/ppr.2022.17365

Effect of nutritional interaction between plant growth stimulants and peach green aphid (*Myzus persicae* Sulzer) on physiological processes of two-spotted ladybird (*Adalia bipunctata* L.)

M. Mardani- Talaee [1, 2]*, G. Nouri- Ganblani [3], A. Zibaee [4], J. Razmjou [3], M. Hassanpour [3] , B. Naseri [3]

1. ***Corresponding Author:** Ph.D. of Agricultural Entomology, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran (mardani@uma.ac.ir)
2. Ph.D. of Agricultural Entomology, Department of Plant Protection, College of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran
3. Professor, 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 Agricultural Sciences University of Guilan, Rasht, Iran

Received: 1 December 2021 Accepted: 17 February 2022

Abstract

Background and Objectives

The effects of plant growth-promoting activities involving biological, chemical, and organic fertilizers are partly well studied for pest insects. Still, studies concentrating on the impacts of such treatments on predators are uncommon. Plant growth promoting treatments- biological, -organic and -chemical fertilizers alter the biochemical composition of plants, which can impact the multitrophic interactions. Beneficial soil microorganisms such as plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) can affect nutritional quality, secondary metabolites, enzymes, phytohormones, and volatile organic compounds (VOCs) of plants, which may influence host plant-insect herbivore- natural enemies interactions. The predatory ladybird, *Adalia bipunctata*, is polyphagous species that mainly feed on aphids, especially the green peach aphid, *Myzus persicae*. It is a polyphagous insect that can cause damage to a lot of crops in fields and greenhouses. There is no published research concerning the effects of various plant growth-promoting on physiological performance of *A. bipunctata.* Thus, we investigated the impacts of various plant growth promoting treatments, viz. no fertilizer (untreated control), one type of PGPRs, vermicompost 30% (v/v), and zinc sulfate on physiological performance of *A. bipunctata* through *M. persicae* reared on treated *Capsicum annum* L. (Solanaceae).

Materials and Methods

Bell pepper seeds of the California Wonder cultivar were developed in 3L plastic pots and were used in bioassays when they reached 4-6 leaf stage under greenhouse conditions. Then, aphids were obtained from tomato farms from Meshkin-Shahr (Ardabil, Iran) and transmitted

to bell pepper grown in the greenhouse. To keep an appropriate sub-sucking colony, every week the individuals were transferred from infested bell peppers to fresh plants. Adults of *A. bipunctata* were obtained from alfalfa farms of Ardabil, Iran, and transmitted to the laboratory, in a growth chamber. Mating pairs were selected and kept together in separate plastic jars (6 by 12 cm^2) and were reared on pepper plants infested with sub-sucking insects as prey. In the study, the effect of spraying zinc sulfate on bell pepper plants and addition of the organic fertilizer of vermicompost 30% and the biologic fertilizers of *Bacillus subtilis* to the growing medium of bell pepper on the activities of critical physiological processes of *A. bipunctata* fed on *M. persicae* using a completely randomized design under greenhouse conditions. Then 5 adult predators were randomly selected from each treatment and homogenized with a hand pounder in 1 mL pure ice-cold water. After that, the specimens were centrifuged at 13,000 g pending 15 min at 4 ◦C. The top layer was collected and kept at 20 ◦C during biochemical analyses. All physiological enzymes assay based on the defined method were conduted in three biological replications. Then, data were analyzed using a one-way analysis of variance (ANOVA) followed by the Tukey test with the MINITAB software.

Results

The results demonstrated a significant difference among the digestive enzymes activities, intermediates, and storage compounds of the predatory ladybug reared on aphids fed on bell peppers treated with different fertilizers. The lowest total protease activity of ladybird was observed in the control compared to other treatments. The elastase activity of ladybug increased on *B. subtilis* compared to other treatments. The highest and lowest amounts of cathepsin B activity in ladybugs were recorded on *B. subtilis* and vermicompost 30%, respectively. The highest and lowest low density lipophore (LDL) values were observed in *A. bipunctata* on control and *B. subtilis* treatment, respectively. Predatory ladybug had the highest protein, triglyceride, and glycogen on *B. subtilis* compared to other treatments. The lowest triglyceride and glycogen was also observed on vermicompost 30%.

Discussion

Plant-herbivore interactions under the influence of bio-fertilizer have led to increased digestive enzymes activity and storage compounds in ladybug, which could be used in combination with the use of biological control agents in integrated management programs of the green peach aphid in greenhouses.

Keywords: Digestive enzymes, Tri-trophic level, Storage macromolecules, Intermediate metabolism.

Associate editor: S.A. Hemmati (Ph.D.)

Citation: Mardani- Talaee, M., Nouri- Ganblani, G., Zibaee, A., Razmjou, J., Hassanpour, M., & Naseri, B. (2022). Effect of nutritional interaction between plant growth stimulants and peach green aphid (*Myzus persicae* Sulzer) on physiological processes of two-spotted ladybird (*Adalia bipunctata* L.). Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture), 45(1): 65-82. 10.22055/ppr.2022.17365.