پاسخ ایمنی بیدکلم تحت تاثیر سه ترکیب تنظیم‌کننده رشد و زنبور پارازیتوئید *Cotesia vestalis*: بررسی تغییر تعداد کلی و تفکیکی هموسیت‌ها

مرضیه علیزاده[۱]، جواد کریم‌زاده اصفهانی[۲]، غلامرضا رسولیان[۳]، وحید حسینی‌نوه[۳]، حمیدرضا پوریان[۳] و حسین فرازمند[۴]

۱- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع‌طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، Alizadehmzh@gmail.com . ۲- بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع‌طبیعی استان اصفهان،۳- گروه گیاهپزشکی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج. ۴- بخش تحقیقات حشره شناسی کشاورزی، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، تهران

هموسیت‌ها نقش مهمی در واکنش‌های ایمنی حشرات در برابر حمله پاتوژن‌ها و پارازیت‌ها دارند. در این تحقیق تاثیر غلظت زیرکشنده LC25 سه ترکیب تنظیم‌کننده رشد حشرات شامل پایری‌پروکسیفن (مقلد هورمون جوانی) و پریکاسین‌های I و II (بازدارنده هورمون جوانی) بر تعداد کلی و تفکیکی هموسیت-های لاروهای بید کلم، *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera, Plutellidae)، پارازیته شده توسط *Cotesia vestalis* (Haliday) (Hymenoptera, Braconidae) بررسی شد. یک آزمون فاکتوریل با دو فاکتور تنظیم‌کننده رشد (در چهار سطح: پایری‌پروکسیفن، پریکاسین I، پریکاسین II و کنترل) و پارازیته‌شدن با زنبور پارازیتوئید *C. vestalis* (در دو سطح: پارازیته‌شده و پارازیته نشده) طراحی گردید. تیمارها ۱۰ بار تکرار شدند و آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی اجرا گردید. برای این منظور لاروهای اوایل سن سوم بیدکلم (پارازیته‌نشده و پارازیته‌شده توسط *C. vestalis*) به روش موضعی با ۰/۵ میکرولیتر از هریک از سه ترکیب مذکور بطور جداگانه تیمار شدند. پس از گذشت ۷۲ و ۱۶۸ ساعت، هملولمف لاروها استخراج شده و با بافر ضد انعقاد خون ترکیب گردید. تعداد کل هموسیت‌ها، تعداد گرانولوسیت‌ها، پلاسماتوسیت‌ها (دو هموسیت تشکیل دهنده کپسول) و درصد سلول‌های مرده با استفاده از لام گلبول شمار نئوبار و میکروسکوپ فازکنتراست شمارش شد. نتایج نشان داد که پایری‌پروکسیفن و پارازیتیسم تعداد کل هموسیت‌ها را کاهش و بالعکس پریکاسین‌ها آن را افزایش دادند. با گذشت زمان از شدت تاثیر آنها بر تعداد کل هموسیت‌ها کاسته شد. درصد هموسیت‌های مرده تحت تاثیر ترکیبات مورد آزمایش، در لاروهای پارازیته‌شده تغییر نکرد ولی پارازیتیسم بطور چشم‌گیری موجب افزایش میزان تلفات هموسیت‌ها شد. تعداد گرانولوسیت‌ها و پلاسماتوسیت‌ها ۷۲ ساعت بعد از پارازیتیسم به‌وسیله پایری‌پروکسیفن کاهش و بالعکس در اثر تیمار با پریکاسین‌ها افزایش یافت که با گذشت زمان از شدت این تاثیر کاسته شد. بنابراین پایری‌پروکسیفن با تضعیف سیستم ایمنی بیدکلم و پریکاسین‌های I و II با تقویت آن، آسیب‌پذیری بیدکلم را در برابر حمله زنبور پارازیتوئید *C. vestalis* تغییر دادند.

Immune response of *Plutella xylostella* (L.) treated with three insect growth regulators against *Cotesia vestalis*: The evaluation of total and differential haemocyte counts

M. Alizadeh[1], Gh. R. Rassoulian[3], J. Karimzadeh[2], V. Hosseininaveh[3], H. R. Pourian[3] and H. Farazmand[4]

1- Department of Plant Protection, College of Agricultural, University of Razi, Kermanshah, Alizadeh@ut.ac.ir;

2- Department of Plant Protection, Isfahan Research Center for Agriculture and Natural Resources, PO Box 199, Isfahan, 81785, Iran; 3- Department of Plant Protection, University College of Agricultural Science and Engineering, University of Tehran, Karaj. 4- *Department of Agricultural Entomology, Iranian Research Institute of Plant Protection, PO Box 1454, Tehran, 19395, Iran*

Haemocytes play a key role in the immune responses of insects against pathogens and parasites. In the present study, the effects of LC25 concentrations of three different insect growth regulators (IGRs), including pyriproxyfen (a juvenile hormone agonist), precocenes I and II (juvenile hormone antagonists), were investigated upon total and differential haemocyte counts of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera, Plutellidae) parasitized by *Cotesia vestalis* (Haliday) (Hymenoptera, Braconidae). A factorial experiment was established using two factors of IGR (at four levels: pyriproxyfen, precocene I, precocene II and control) and parasitism (at two levels: unparasitized and parasitized by *C. vestalis*). The treatments were replicated 10 times in a completely randomized design. The unparasitized and parasitized (by *C. vestalis*) early 3rd instar *P. xylostella* larvae were topically treated by 0.5 µl of an IGR. After 72 and 168 h the larval haemolymph was collected, immediately diluted in the anticoagulant solution and applied to a Neubauer haemocytometer. The number of live and dead haemocytes, granulocytes and plasmatocytes (two haemocytes that participate in encapsulation response) was determined by phase contrast microscopy. The results showed that pyriproxyfen and parasitism reduced the total number of haemocytes. On the contrary, the total number of haemocytes was increased in the larvae treated with precocenes. The portion of dead haemocytes did not altered by tested IGRs but significantly increased by parasitism. In addition, the number of granulocytes and plasmatocytes decreased by pyriproxyfen but increased by precocenes at 72 h after treatment. However, the effects of IGRs and parasitism on the total number of haemocytes decreased over time.These findings indicate that pyriproxyfen by debilitation and precocenes I and II by support of immune system of *P. xylostella*, making it more or less vulnerable to attack by *C. vestalis*.