

بیست و دومین کنگره گیاهپزشکی ایران



۶ تا ۹ شهریور ۱۳۹۵ - پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

مجموعه مقالات کنگره

تدوین: رضا طلایی حسنلویی
استاد دانشگاه تهران

واکنش‌های دفاع سلولی و هیومورال *Spodoptera exigua* در مقابل نماتودهای بیمارگر حشرات *Heterorhabditis bacteriophora* و *Steinernema carpocapsae*

ریحانه درسوئی^۱، جواد کریمی^۱، محمد قدمیاری^۲ و مجتبی حسینی^۱

۱- گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۲- گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان
r.darsouei@gmail.com

نماتودهای بیمارگر *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar و *Steinernema carpocapsae* Filipjev از عوامل مهم کنترل بیولوژیک آفات به شمار می‌روند. شناخت واکنش‌های دفاعی آفت هدف نسبت به این عوامل، می‌تواند در کاربرد بهینه این نماتودها موثر باشد. بررسی جاری به منظور شناخت واکنش‌های دفاع سلولی و هیومورال لارو *Hübner, 1808 (Lepidoptera: Noctuidae)* *Spodoptera exigua* در مواجهه با دو گونه نماتود مذکور انجام شد. در این تحقیق ۷ لارو عفونت‌زای نماتود به لارو سن پنجم پروانه‌ی برگ‌خوار چنندر قند تزریق شد و واکنش‌های دفاعی، در زمان‌های ۰/۵، ۲، ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ ساعت پس از تزریق بررسی گردید. تعداد کل سلول‌های خونی در تیمارهای تزریق شده با *S. carpocapsae* بعد از گذشت ۱۲ ساعت به بالاترین مقدار رسید و پس از آن سیر نزولی داشت. در حالی که در خصوص گونه‌ی *H. bacteriophora* این میزان ۴ ساعت بعد از آلودگی به بیش‌ترین حد خود رسید. سیستم ایمنی لارو *S. exigua* می‌تواند لاروهای عفونت‌زای *H. bacteriophora* را به عنوان یک عامل خارجی شناسایی کند به نحوی که نیم ساعت پس از تزریق نماتود، ۶۰ درصد از لاروهای عفونت‌زای تزریق شده توسط سلول‌های خونی شناسایی گردیدند. به دنبال شناسایی نماتود، انکپسوله‌ی کامل و ملانیزاسیون آن‌ها به ترتیب ۱۲ و ۲۰ ساعت پس از تزریق ثبت گردید درحالی که نماتود *S. carpocapsae* از سیستم ایمنی میزبان فرار کرد. در بخش دفاع هیومورال، فعالیت سه آنزیم پروتئاز، فسفولیپاز A2 و فنول اکسیداز اندازه‌گیری شد. میزان آنزیم پروتئاز در لارو تیمار شده با *H. bacteriophora* و *S. carpocapsae* به ترتیب در ۴ و ۱۲ ساعت پس از تزریق به بیش‌ترین مقدار خود رسید و سپس کاهش یافت. میزان آنزیم فسفولیپاز A2 نیز که در مسیر سنتز آنزیم فنول اکسیداز تولید می‌شود در لارو تیمار شده با *H. bacteriophora* روند تقریباً ثابتی داشت و در ۱۲ ساعت پس از تزریق مقداری افزایش (0.28 pmol/min) یافت. در حالی که میزان این آنزیم در لارو تیمار شده با *S. carpocapsae* دو ساعت پس از تزریق به بالاترین مقدار خود (0.3 pmol/min) رسید. میزان فعالیت آنزیم فنول اکسیداز در لارو تیمار شده با *H. bacteriophora* ۲ ساعت بعد از تزریق به بیش‌ترین مقدار خود رسید (1.83±0.27 U mg⁻¹) و سپس روند ثابتی داشت. اما در لارو تیمار شده با *S. carpocapsae* این آنزیم ۴ ساعت بعد از تزریق به بیش‌ترین مقدار خود رسید (1.83±0.37 U mg⁻¹). نتایج حاصل موبد این بود که واکنش‌های دفاع سلولی *S. exigua* در برابر *S. carpocapsae* نسبت به *H. bacteriophora* ضعیف‌تر می‌باشد. درحالی‌که آنزیم‌های دخیل در سیستم ایمنی نظیر پروتئاز، فسفولیپاز A2 و فنول اکسیداز در لارو *S. exigua* زمانی که در معرض نماتود *S. carpocapsae* قرار می‌گیرد اگرچه از نظر زمانی با تاخیر به بیش‌ترین فعالیت خود می‌رسند، اما مقدار عددی بیشتری را نشان می‌دهند.

واژه‌های کلیدی: بیماری‌شناسی حشرات، سلول‌های خونی، پروتئاز، فسفولیپاز A2، فنول اکسیداز.

Cellular and Humoral responses of *Spodoptera exigua* against entomopathogenic nematodes, *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae*.

Reyhaneh Darsouei¹, Javad Karimi¹, Mohammad Gadamyari² and Mojtaba Hosseini¹

¹-Department of Plant Protection, School of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

²-Department of Plant Protection, College of Agriculture, Guilan University, Rasht, Iran.
r.darsouei@gmail.com

Entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar and *Steinernema carpocapsae* Filipjev are the important agents of biological control. Identification of host defense reactions against these agents can affect application of these nematodes. The current study was done to identify cellular and humoral defense reactions of the *Spodoptera exigua* against *H. bacteriophora* and *S. carpocapsae*. Seven individuals of infective juvenile were injected to beet armyworm larva and defense reactions were addressed at 0.5, 1, 2, 4, 8, 12 and 16 hour post injection. The total hemocyte counts (THC) in injected larvae with *S. carpocapsae* increased to the maximum amount by 12 hours but it decreased afterward. While the total hemocyte counts in the injected larvae with *H. bacteriophora* showed the highest value at 4 hours post injection. The immune system of *S. exigua* larvae could recognize infective juveniles of *H. bacteriophora* as a foreign agent. By 0.5 hour after injection, 60% of the injected infective juveniles were attached to the hemocytes. After initial step of hemocytes attachment, complete encapsulation and melanization of *H. bacteriophora* were occurred by 12 and 20 hours after injection, respectively while, *S. carpocapsae* escapes from immune system of its host. In humoral defense aspect, activities of protease, phospholipase A2 and phenoloxidase were measured. Activity of protease enzyme in the treated larvae with *H. bacteriophora* and *S. carpocapsae* were the highest level at 4 h and 12 h post injection. The rate of phospholipase A2 that is produced at pathway of phenoloxidase synthesis, in the treated larvae by *H. bacteriophora* was almost stationary and but it increased at 12 hour post injection (0.29 ± 0.01). While, the activity of this enzyme in the treated larvae with *S. carpocapsae* at 2 hour post injection reached to the maximum amount (0.3 pmol/min). Activity of phenoloxidase in the treated larvae by *H. bacteriophora* 2 hpi reached to the maximum count ($1.52 \pm 0.05 \text{ U mg}^{-1}$) and then had a fixed process. But the amount of this enzyme reached to the maximum amount ($1.83 \pm 0.37 \text{ U mg}^{-1}$) by 4 hpi in the treated larvae by *S. carpocapsae*. The obtained results indicated that cellular responses of *S. exigua* against *S. carpocapsae* were weaker than *H. bacteriophora*. Also protease, phospholipase A2 and phenoloxidase are involved in defense reaction of *S. exigua* against *S. carpocapsae*, but their quantity declined later rather than against *H. bacteriophora* and although their amount were higher comparing to the corresponded amount in *H. bacteriophora* treated larvae.

Keywords: Insect pathology, Hemocyte, Protease, Phospholipase A2, Phenoloxidase