

تغییرات مرفولوژیکی و فیزیولوژیکی حاصل از تاثیر ترکیب تریفلومرون (Triflumuron) بر روی لارو آنوفل استفسی در آزمایشگاه (Culicinae : Diptera)

محمد ابراهیم فرآشینی^۱، دکتر حسین لدنی^۲

واژه های کلیدی: آنوفل استفسی، ای.ج.آر، مهارکننده سنتز کیتین، تریفلومرون

چکیده

تریفلومرون (SC48%) یک ترکیب جدید مهارکننده سنتز کیتین از گروه تنظیم کننده های رشد حشرات (I.G.Rs) بوده و دارای اثرات تاخیری می باشد. این خاصیت یکی از مزیت های مهم این لاروکش بوده و در آزمایشگاه به منظور مطالعه این خاصیت هزار لارو سن اول آنوفل استفسی سوش انسکناریوم در ده ظرف پرورش لارو (دهرظرف پرورش صدعدد لارو) قرار داده شده و لاروها به طور همزمان با لاروکش تریفلومرون با غلظت معادل LC50 (۰/۰۰۰۱ میلی گرم برلیتر) به طور دائم تماس داده شدند. تعداد بسیاری از لاروها (۴۳٪) کشته شده و در آنها تغییرات مرفولوژیکی مختلف مشاهده شد. پوست تعدادی از این لاروها کاملاً سیاه شده و در تعدادی دیگر ناحیه سینه متورم شده بود. بعضی دیگر از لاروهای مرده قادر نبودند که خود را از پوسته قدیمی جدا نمایند و به آن چسبیده بودند. مابقی لاروها تقریباً به طور همزمان تبدیل به شفیره شدند. تعداد کل شفیره های تشکیل شده (۴۰۵ عدد)، تقریباً نصف آنها (۱۸۰ عدد) باز نشده و سیاه شده و از بین رفتند. تعداد دیگری از شفیره ها (۹۱ مورد) به طور ناقص باز شده و فقط سر و قسمتی از سینه از پوسته شفیرگی خارج شده و مابقی قسمت های بدن حشره کامل در داخل پوسته پویی باقی مانده بود. تعداد نسبتاً اندکی از شفیره ها (۱۳۸ مورد) به طور کامل باز شدند و حشره بالغ از آنها خارج شد. در حشرات بالغ به وجود آمده ناهنجاری های شدید مرفولوژیکی مشاهده شد که به عنوان مثال می توان به برگشتن پنجه های پا به قسمت بالا و کم بودن تعداد پاها (۴۴ مورد)، پنجه پاها چسبیده به پوسته شفیرگی (۴۵ مورد)، ناهنجاری دربال ها (۳۸ مورد) و غیره اشاره کرد. سرانجام تعداد اندکی از بالغین (۲ عدد) قادر به تخم گذاری شدند و از نظر معیار تعداد تخم به حشره ماده، شاهد و تیمار با هم تفاوت معنی داری نداشتند.

۱- مرکز تحقیقات البرز، مؤسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع، صندوق پستی ۳۱۵۸۵-۳۴۲، کرج، ایران.

۲- گروه حشره شناسی پزشکی، دانشکده بهداشت و انسیتوت تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران،

صندوق پستی ۴۴۴۶-۱۴۱۵۵، تهران، ایران.

سرآغاز

تنظیم کننده های رشد حشرات با آی.جی. آرهای دارای اثرات تاخیری می باشند و این خاصیت یکی از مزیت های مهم آنهاست. لاروکش تریفلومرون^۱ نیز جزء تنظیم کننده های رشد این نوع حشرات با همین خاصیت است. اثرات تاخیری یک سری از ناهنجاری ها و اثرات سوءاثوابی هستند که در شفیره ها و بالغین حاصل از لاروهای تیمار شده با لاروکش با غلظت زیر دز کشنده^۲ ۹۰٪ دیده می شود (۶،۵). به عنوان مثال لاروهای کایرونومیده ها که در معرض تریفلومرون قرار می گیرند مرگ و میر زیادی در مرحله شفیره در آنها به وجود می آید (۸).

علاوه بر این اثرات تاخیری تریفلومرون به وسیله سایر محققین نیز مطالعه شده و نتایج بدست آمده نشان داده است که این لاروکش دارای اثرات تاخیری می باشد (۴،۲،۱).

بهرحال آنوقت استفساری یکی از ناقلین عمده مالاریا در جنوب ایران می باشد و مطالعه بر روی جنبه های مختلف کنترل لن با اهمیت می باشد و هدف از انجام این بررسی دانستن اثرات تاخیری تریفلومرون بر روی شفیره و بالغین حاصل از لاروهایی که در صحرا در معرض این لاروکش بوده اند و تاثیر این خاصیت لاروکش بر روی میزان مرگ و میر در جمعیت ناقل می باشد. علاوه بر این برای دانستن مقادیر واقعی LC_{50} و LC_{90} ، دانستن اثرات تاخیری این لاروکش ضروری می باشد.

نمونه گیری و روش بررسی

کلیه مطالعات در آزمایشگاه بر روی آنوفل استفسی^۳ سوش انسکتاریوم^۴ انجام گردید. نمونه های این سوش در سال ۱۳۳۸ از روستاهای اطراف شهرستان کازرون جمع آوری شد و به انسکتاریوم دانشکده بهداشت انتقال یافته اند و در آنجا پرورش داده شده اند. این سوش دارای سابقه مقاومت به حشره کش های د.د.ت، دیلدترین و مالاتیون می باشد (۳). ولی تابه حال با هیچکدام از حشره کش های متعلق به گروه آی.جی.آر تماس داده نشده است.

در این آزمایش لاروها در ظروف پلاستیکی یک بارمصرف با ابعاد $۲۰ \times ۱۰ \times ۷$ سانتی متر در انسکتاریوم پرورش داده شدند. در هر ظرف تعداد صد لارو سن یک ریخته شده و در معرض تماس با تریفلومرون ($LC_{90} < ۴ \text{ mg/l} < ۴ \times ۱۰^{-۴}$) قرار گرفتند.

در این مرحله از آزمایش هر روز به لاروها غذا (بودبماکس)^۵ داده شد و لاشه لاروهای مرده و همچنین غذای مانده در ظرف جمع آوری شده و مرگ و میر لاروها یادداشت می گردید.

- 1- I.G.Rs, Insect Growth Regulators
- 2- Triflumuron
- 3- Anopheles stephensi
- 4- Insectary
- 5- Bemax

تعداد بسیاری از لاروهای در اثر تماس با لاروکش کشته شده و تعداد کمی نیز تبدیل به شفیره شدند. شفیره ها جمع آوری شده و به قفس انتقال داده شدند.

بعدازاینکه شفیره ها به قفس انتقال داده شدند، پرورش آنها طبق روش معمول در انسکتاریوم انجام گرفت. با بردن دست به داخل قفس پرورش بالغین پشه ها سه بار و یک روز در میان خونخواری کردند و سرانجام برای پشه های ماده کاملاً باردار تیمار ظرف پرآب گذاشته شد و پشه ها تخم ریزی نمودند و تعداد تخم ها شمارش گردید.

لاروهای شاهد تبدیل به شفیره شدند و شفیره ها به قفس جداگانه انتقال یافته و مانند قفس تیمار، پرورش داده شدند. سرانجام حدود ۲۴ ماه باردار با اسپراتور از قفس گرفته شده و هرکدام از آنها به قفس های انفرادی انتقال داده شدند. قفس های انفرادی با استفاده از لیوان یکبار مصرف، توری پنبه و پرسیخته می شوند. پشه ماده باردار در داخل آب نه لیوان تخم ریزی نموده و روی پر استراحت می کند و از پنبه آغشته به آب قند به عنوان منبع سوکروز استفاده می نماید. نهایتاً تخم های گذاشته شده شمارش شده و نسبت تخم به ماده باردار در شاهد و تیمار محاسبه شد.

یافته ها

آزمایش هایی به منظور تعیین اثر تریفلومرون بر روی شفیره و بالغینی که در مرحله لاروی با تریفلومرون تیمار شده اند، در آزمایشگاه طرح ریزی گردید و نتایج حاصل از آزمایش در شترنگ^۱ آمده است.

از تعداد هزار لاروکه در تماس با تریفلومرون قرار گرفتند بیش از نصف لاروها از بین رفتند و نهایتاً ۴۰۵ عدد از این لاروها به شفیره تبدیل شدند. از این تعداد شفیره تشکیل شده تقریباً نصف آنها (۱۸۰ عدد) بازنشده و سیاه شده و در ته ظرف افتاده و مردند.

در تعدادی دیگر (۹۱ مورد) شفیره کاملاً بازنشده و فقط سر و قسمتی از سینه از پوسته شفیره خارج شده و مابقی بدن حشره در داخل پوسته شفیره باقی مانده و به این طریق حشره نتوانسته بود به طور کامل از پوسته شفیره خارج شده و نیم دیگر در داخل پوسته شفیره باقی مانده بود. در بعضی موارد فقط قسمت کوچکی از سر حشره از پوسته شفیره خارج شده بود. سرانجام تعدادی از شفیره ها به طور کامل باز شدند و حشره بالغ از آنها خارج شد. از ۴۰۵ شفیره تشکیل شده فقط ۱۳۸ عدد از این شفیره ها به آنوفل بالغ تبدیل گردیدند. بالغین بوجود آمده تغییرات مرفولوژیکی بسیاری داشتند. عده ای از بالغین از پوسته شفیره بیرون آمده ولی تارسی پاها به پوسته شفیره چسبیده بود و بالغین نتوانسته بودند که کاملاً از پوسته شفیره جدا شوند و در نتیجه روی آب افتاده و مرده بودند (۴۵ مورد) و اما در تعداد دیگری از بالغین که از پوسته شفیره کاملاً جدا شده بودند ناهنجاری های مرفولوژیکی زیر در آنها دیده شد:

۱- ناهنجاری در بال ها: یکی از بال ها باز و دیگری بسته یا جفت بال ها در حالت استراحت

باز، این عده روی آب افتاده و مرده بودند (۳۸ مورد).

۲- برگشتن نارسای پاهای به سمت بالا، در تعداد دیگری وضعیت قرار گرفتن پاهای بر روی سطح غیرعادی و چنین بالغینی به طور نامتعادل در کف قفس افتاده بودند و قادر به پرواز و تغذیه نبودند و بعد از چند روز از بین رفتند. همچنین در بعضی از بالغین افتاده در کف قفس علاوه بر غیرعادی بودن طرز قرار گرفتن پاهای تعداد پاهای نیز کم بود (۴۴ مورد).

۳- در عده ای دیگر ناهنجاری مرفولوژیک مشاهده نشد و اینها حتی یک بار قادر به خونخواری شدند ولی سرانجام نتوانستند تغذیه کنند، از بین رفتند.

نهایتاً تنها سه حشره بالغ بدست آمد که به نظر می رسید ناهنجاری خاصی ندارند و دو تا از این حشرات بالغ ماده و یکی نر بود. ماده ها سه بار خونخواری کرده و نهایتاً هر دو حشره ماده ۱۱۹ عدد تخم گذاشتند. نسبت تعداد تخم گذاشته شده به تعداد حشرات ماده خون خورده در شاهد و تیمار چنین می باشد.

تیمار : ۵۹/۵ =	$\frac{119 \text{ تعداد تخم های گذاشته شده}}{2 \text{ تعداد حشره ماده}}$
شاهد : ۵۲ =	$\frac{990 \text{ تعداد تخم گذاشته شده}}{19 \text{ تعداد حشره ماده}}$

به طور خلاصه می توان گفت که میزان تخم گذاری در تیمار و شاهد با هم تفاوت معنی داری نداشته و تقریباً یکسان بوده است ($P < 0.01$). شترنگ ۱ نتایج حاصل از این آزمایش را در تیمار در مقایسه با شاهد نشان می دهد. در تمامی مراحل آزمایش تیمار و شاهد به خوبی با هم مقایسه شده اند.

گفتگو و بهره گیری پایانی

همانطور که قبلاً مشاهده شد لاروهایی که در معرض تماس با غلظت معادل LC_{50} تریفلومرون قرار گرفتند، اثرات تاخیری تریفلومرون بر روی شفیره و بالغین حاصل از این لاروها ظاهر شده و نهایتاً از ۱۰۰۰ لارو سن یک تیمار شده فقط سه حشره بالغ بدست آمد که قادر به خونخواری و تخم گذاری گردیدند. در اینجا فقط به این نکته اشاره می شود که ۰/۳ درصد لاروهای تیمار شده به حشرات بالغ تبدیل گردیدند که این بالغین قادر بودند تغذیه و تخمگذاری انجام دهند.

همانطور که در سرآغاز ذکر شد، اثرات تاخیری تریفلومرون به وسیله سایر محققین نیز مطالعه شده و نتایج مشابهی بدست آمده است (۶،۲).

به عنوان مثال، در سه گونه از ناقلین بر اثر تماس لاروهای سن اول و دوم به تریفلومرون

تغییرات مرفولوژیک زیادی صورت گرفت. گونه های مورد مطالعه^۱ از کلنی آزمایشگاهی بوده و این تحقیق در سال ۱۹۸۷ در هندوستان صورت گرفت (۲).

در آزمایش دیگری، لاروهای سن چهارم^۲ به مدت ۲۴ ساعت در تماس با تریفلومرون با غلظت ۰/۱ تا ۰/۰۰۵ قسمت در بیلیون قرار گرفتند. تعدادی از لاروها تبدیل به شفیره - لارو (حالتی بین مرحله لاروی و شفیره) شدند. بالغین حاصل از لاروهای تیمار شده، قادر به خروج کامل از پوسته شفیره نشده و یک یا چند تا از پاهایشان به پوسته چسبیده بود. همچنین عده ای از بالغین نصف بدن از پوسته شفیره ی خارج شده و نصف دیگر در داخل پوسته شفیره باقی مانده بود (۱۶).

در مطالعاتی که در سال ۱۳۷۵ بر روی حشرات کامل این گونه انجام گرفت، مشخص شد که تریفلومرون دارای اثرات تاخیری می باشد. بطوری که وقتی حشرات بالغ به مدت ۷ روز از آب قند محتوی لاروکش تغذیه نمودند، هیچکدام از تخم های گذاشته شده بوسیله بالغین تیمار شده، باز نشدند و درصد تفریح تخم صفر بود.

به طور کلی با توجه به مطالعات انجام شده چنین به نظر می رسد که برای محاسبه LC_{50} و LC_{100} حقیقی، میزان مرگ و میر شفیره ها و بالغین نیز باید مورد توجه و محاسبه قرار گیرد و در اینصورت مقدار LC_{50} و LC_{100} بسیار کمتر از غلظت محاسبه شده بطور معمولی خواهد بود. به عنوان مثال همانطور که ذکر شد، لاروهایی که در تماس با حشره کش با غلظت معادل LC_{50} بودند، خروج بالغین از پوسته شفیره به ۰/۳ درصد تقلیل پیدا کرد و حدود ۹۹/۷٪ از خروج بالغین جلوگیری شد. اثرات تاخیری این لاروکش یکی از مزیت های آن به حساب می آید که در ارزشیابی صحرائی باید مورد توجه واقع شود.

سپاسگزاری

نگارندگان بر خود فرض می دانند از گروه حشره شناسی دانشگاه تربیت مدرس، آقای مهندس محمد ضاعایی، آقای فریدون کمالی کارشناسی محترم ایستگاه تحقیقات پزشکی کازرون و آقای غلامرضا اسکندری تکنسین محترم آزمایشگاه به خاطر همکاری های بی دریغشان تشکر و قدردانی نمایند.

1- *An. Stephensi C. quinquevatus*

2- *Aedes aegypti*

3- *C. quinquevatus*

4- *Anopheles stephensi*

شترنگ ۱- نتایج حاصل از بررسی اثرات تاخیری تریفلومرون در لاروهای سن اول تماس داده شده با غلظت ۴-۱۰ mg/l لاروکش

شماره	توصیحات	تیمار	شاهد
۱	تعداد کل لاروهای سن اول در ابتدای آزمایش	۱۰۰۰	۲۰۰
مرحله لاری ^۱			
۲	میزان مرگ و میر در مرحله لاری	۲۲۷ (۲۲/۷)	۱۲ (۲/۶)
۳	میزان کانی بالیسم	۱۶۸ (۱۶/۸)	۲۳ (۲۳/۵)
۴	تعداد کل پوپ های تشکیل شده	۲۰۵ (۲۰/۵)	۱۲۵ (۱۲/۵)
مرحله شفیرگی ^۲			
۵	تعداد کل پوپ های تشکیل شده	۱۶۸ (۱۶/۸)	۱۲۵ (۱۲/۵)
۶	تعداد پوپ های باز نشده و مرده	۱۸۸	۱۷
۷	تعداد پوپ های نیمه باز شده	۹۱	
۸	تعداد پوپ های باز شده	۱۲۸	
بالغ ^۳			
۹	تعداد کل بالین	۱۲۸	۱۲۸
۱۰	حشره بالغ از پوسته پوپ کاملاً بیرون آمده ولی فقط تارسی پاها چسبیده به پوسته پوپ	۲۵	
۱۱	یکی از بال ها باز و دیگری بسته یا جفت بال ها در حالت استراحت باز و افتاده روی آب	۲۸	
۱۲	بدون تا هتجار شدید مرفولوژیکی و بعد از یک بار خونخواری از بین رفته اند	۸	
۱۳	کم بودن تعداد پاها و تارسی پاها برگشته	۲۲	
۱۴	مسئول و ماده ها موفق به تخم گذاری شدند	۳	۱۲۸

1- Larval stage 2- Pupal stage 3- Adult stage

کتابنامه

- ۱- فراشتهای. محمدابراهیم (۱۳۷۵): ارزشیابی آزمایشگاهی و صحرایی لاروکش تریفلومرون (Triflumuron) 48%S علیه ناقلین مالاریا در جنوب ایران. رساله فوق لیسانس حشره شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلین دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس. ۱۷۶ صفحه.
- 2- Amalraj D, Vasuki V, Kalyanasundaram M, Tyagi BK, Das PK (1987): Laboratory and field evaluation of three insect growth regulators against mosquito vectors. *Indian. J. Med. Res.* 87: 24 - 31.
- 3- Ladonni H, Bniardalani M, Naddaf-desfuli S (1992): Genetics and mechanism of malathion resistance in *Anopheles stephensi* from Bandr-Abbas and its cross-resistance spectrum to DDT, dieldrine and pirimiphos-methyl. *Iranian. J. Publ. Health*, 21(1-4): 39-52.
- 4- Miura T, Takahashi RM (1979): Effect of insect growth inhibitor BAY SIR 8514 on hatching of southern house mosquito eggs. *J. Econ. Entomol.* 72:692-4.
- 5- Mohsen ZH, Mehdi NS (1989): Effects of insect growth inhibitor Alsystin on *Culex quinquefasciatus* say (Culicidae: Diptera). *Insect Sci. Applic.*, 10(2): 29-33.
- 6- Pelsue FW (1984): Biological and morphological effects of insect chitin inhibitors on Chironomidae. *Bull. Soc. Vector Ecol.*, 9(1): 59-70.
- 7- Pelsue FW (1985): Morphopathological effects of insect chitin inhibitors on Chironomidae (Diptera). *Bull. Soc. Vector Ecol.*, 10(1): 23-9.