

بررسی نقش هورمون جوانی در فعالیت غدد مترشحه و بیوسنتز فرمون جنسی در سن های گندم

An Investigation on the sunn pest pheromons glands, biosynthesis
of the sex pheromone and activation of the glands by JH Mimic.

عباس عبداللہی

موسسه تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی

چکیده

در سن *Aelia melanota* غدد فرمون جنسی در مفصل های شکمی ۲ تا ۷ پراکنده شده اند، ولی در نواحی اطراف مجاری تنفسی، لکه های شکمی و قطعات پهلویی فاقد این غدد میباشند. در سن معمولی گندم (*Eurygaster integriceps*) این غدد در سطح شکمی پراکنده بوده و تا ناحیه قطعات پهلویی مشاهده شده است. در هر دو گونه ماده ها فاقد غدد مترشحه فرمون بوده و ارتباط بین غدد فرمون و سیستم تراشه ای مشاهده نشد. کاربرد هورمون جوانی، غدد مترشحه فرمون در *E. integriceps* را فعال کرد و پس از یک هفته بوی وانیلین فرمون جنسی آن به خوبی استشمام شد، دوره دیابوز اجباری را در حشره نر از ۲ ماه به ۱/۵ ماه کاهش داده و باعث تخم ریزی زودرس ماده ها گردید.

مقدمه

در ناحیه Pregenital (قطعات یک تا هفت شکمی) در گونه های مختلف بالا خانواده Pentatomoidea غدد مختلفی وجود دارد. نظیر غدد معمولی جلدی (Dermal glands)، غدد بودار پشتی شکمی (Abdominal dorsal scent glands) و بالاخره غدد فرمون جنسی حشره نر (Male sternal gland)، (Staddon, 1990 & Carayon, 1981). غدد معمولی و غدد بودار پشتی شکمی در هر دو جنس نر و ماده این حشرات وجود دارند ولی غدد فرمون جنسی فقط به صورت اختصاصی در حشرات نر دیده میشود.

اغلب ترشحات دفاعی و فرمون بوسیله غدد اکتودرمی تولید می شوند. این غده ها چون ترشحات خود را به خارج بدن می ریزند، به نام برون ریز (Exocrine) نامیده می شوند. در صورتیکه غدد درون ریز (Endocrine)، ترشحات خود را از طریق همولنف در داخل بدن به

جریان می‌اندازند (Chapman, 1982) و این غدد از نظر بافت شناسی و ساختمان واحدهای ترشحی شبیه بهم هستند.

چگونگی پراکنش غدد در گونه‌های مختلف این بالا خانواده کاملاً متفاوت است (Staddon and Edmonds, 1991). بطوریکه با توجه به پراکنش این غدد جنس *Piezodorus* گونه‌ها را میتوان از هم جدا کرد (Staddon et al, 1994). ارتباط و اتصال این غدد به سیستم تراشه‌ای در چند فرد از گونه *Aelia acuminata* نیز برای اولین بار توسط Edmonds, Staddon سال 1991 گزارش شده است. در پی استخراج و معرفی ساختمان شیمیایی فرمون جنسی سن گندم (Staddon et al, 1991 و عبداللهی، ۱۳۷۴)، مطالعات بیشتر و کاملتری جهت زیست‌سنجی (Bioassay) این فرمون ضروری میباشد.

در حال حاضر با کاربرد هورمون جوانی میتوان دیاپوز اجباری سن گندم را شکسته و جفت‌گیری و تخم‌ریزی را مشاهده نمود (Burov et al, 1982 و زرنگار، ۱۳۷۴). این بررسی‌ها در مورد بیولوژی و چگونگی پراکنش غدد فرمون جنسی در سنهای گندم، ارتباط این غدد با سیستم تراشه‌ای و نیز امکان فعال کردن غدد مترشحه فرمون جنسی با کاربرد هورمون جوانی و نقش این هورمون در بیوستتز فرمون صورت گرفته است.

روش بررسی

نمونه‌های *E. integriceps* و *A. melanota* در مهر ماه ۱۳۷۲ از اماکن زمستان‌گذران استانهای همدان و مرکزی جمع‌آوری و پس از شناسائی دقیق و تعیین جنسیت در الکل ۷۰٪ نگهداری گردید. کلیه نمونه‌ها به مدت یک هفته در محلول پتاس ۱۰٪ در شرایط آزمایشگاهی نگهداری شد و قطعات مختلف بدن از هم جدا گردید. قطعات جدا شده بوسیله اسیدفوکسین همراه با یک قطره اسید استیک (تثبیت کننده) رنگ آمیزی و آبیگری از آنها توسط الکلهای ۵۰٪ و ۷۰٪ و ۹۹٪ انجام و بوسیله اسانس اپارل (Euparal) شفاف گردید.

از این قطعات اسلایدهای دائمی تهیه و نمونه‌هایی برای مطالعات میکروسکوپ نوری و الکترونی آماده گردید.

جهت بررسی اثر هورمون جوانی، حشرات کامل نسل جدید، قبل از برداشت گندم در ورامین در اواسط تیر ماه ۱۳۷۵، از سطح مزارع جمع‌آوری گردید. این نمونه‌ها در شرایط ۲۳ تا ۲۶ درجه سانتیگراد حرارت، ۷۰-۶۰ درصد رطوبت نسبی و ۱۵ ساعت روشنائی با ۹ ساعت تاریکی جهت انجام آزمایشات نگهداری گردید. در این بررسیها، ۱ppm آدیمرال ۱۰٪ (Pyriproxyfen, Juvenile hormone) به دو روش زیر برای هر حشره بکار گرفته است.

۱- قرار دادن هورمون در سطح شکمی سن توسط میکرواپلیکاتور (Topical application)

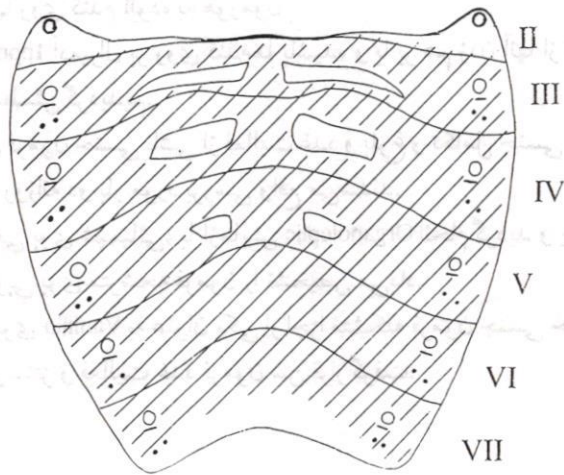
۲- رهاسازی سننها روی گندم آلوده به هورمون
برای اینکار 1ppm آمیرال بر روی گندمها پاشیده و با برهم زدن آنها از آغشته شدن سطح
آنان به هورمون مطمئن گردیدیم.
در تعیین بوی فرمون جنسی ناشی از فعالیت غدد و بلوغ و تکامل جنسی حشرات نر و ماده،
شاهد و تیمارها، روزانه دو بار مورد بررسی واقع می شدند.
تشخیص قطعی بوی شیمیائی، با آزمایش Organoleptic انجام گردید و یکی از همکاران در
آزمایشگاه، به خوبی بوی مترشحه فرمون را تشخیص می داد.
در این رابطه بوی Vanillin به عنوان یکی از اجزا متشکله فرمون جنسی حشره نر (عبداللہی،
۱۳۷۴) ملاک بیوسنتز و فعالیت غدد فرمون سن قرار گرفت.

نتیجه و بحث

شکلہای ۱ تا ۴ به ترتیب توزیع و پراکنش غدد در سطح شکمی، اتصال غدد با تراشه در
A. acuminata، منافذ خروجی غدد در سطح شکمی، پراکنش غدد در لایه اکتودرم و بالاخره
عکس های میکروسکوپ الکترونی یک دسته از غدد را نشان میدهند. در این شکلها ضمن ارائه
سطح پراکنش و ساختمان غدد فرمون، هیچگونه نشانه ای دال بر اتصال این غدد با سیستم
تراشه ای دیده نشد. پراکنش غدد نر در بالا خانواده Pentatomoidea به عنوان منبع متحمل ترشح
فرمون جنسی برای اولین بار توسط Carayon سال ۱۹۸۱ گزارش شده است.
امکان ارتباط این غدد و سیستم تراشه ای برای اولین بار توسط Edmonds و Staddon
سال ۱۹۹۱ بیان شده است.

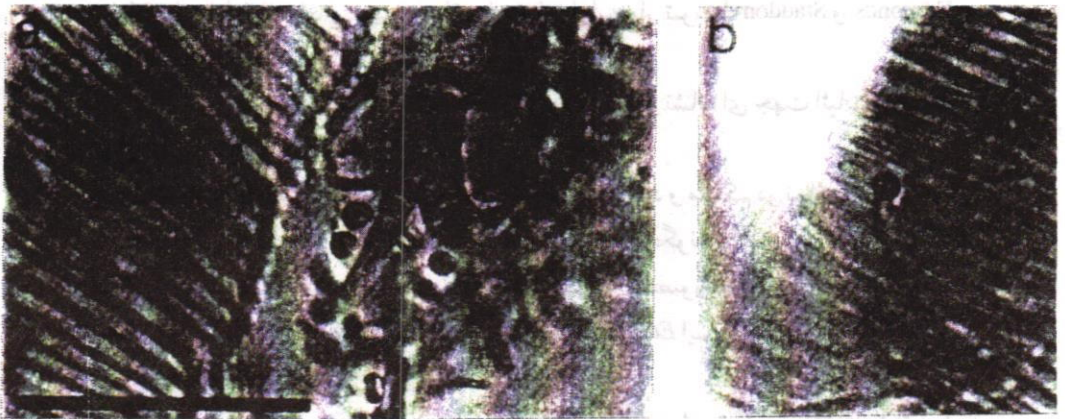
براساس بررسی انجام شده در حال حاضر هیچ نوع دلیل و نشانه ای جهت اثبات نظریه فوق
مبنی بر تائید Tracheal glands وجود ندارد.
در گونه *E. integriceps* غدد فرمون جنسی به صورت منفرد و متراکم در تمام سطح شکمی و
قطعات پهلویی از قطعه ۲ تا ۷ پراکنده اند. در این گونه هیچگونه ارتباطی بین غدد و سیستم
تراشه ای دیده نشد. در گونه های جنس *Aelia* غدد فرمون بصورت لکه ای و خوشه ای در
قطعات ۲ تا ۷ شکمی دیده شد ولی برخلاف *Eurygaster* این غدد در قطعات پهلویی
(laterotergite) مشاهده نشد.

این بررسی همچنین عدم وجود غدد فرمون را در لکه های شکمی (Patch) تائید کرد
(Staddon, 1992). غدد فرمون در حشرات ماده جنس های *Aelia* و *Eurygaster* دیده نشد. این غدد
اختصاصی حشرات نر میباشد (Carayon, 1981). ادعای ارتباط غدد فرمون با سیستم تراشه ای
مورد شک است و به مطالعات بیشتری در جهت تائید و یا رد قاطع این نظریه نیاز است. عدم
وجود غدد در لکه های شکمی را براساس نظریه (Staddon, 1992) بدین صورت میتوان تبیین کرد
که این لکه ها با توجه به نقش تنظیم کننده ای که در مورد حرارت بدن دارند فاقد لایه اکتودرم



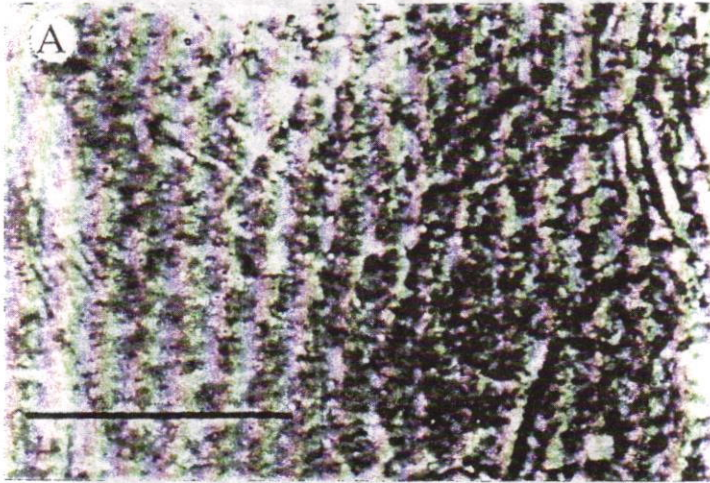
شکل ۱- پراکندگی غدد فرمون جنسی در حشره نر *A. melanota* قطعاً ۲ تا ۷ شکمی به جز نواحی اطراف مجاری تنفسی و لکه های شکمی. عکس از نویسنده

Fig. 1. Sternal map showing gland regional pattern in the adult male *Aelia melanota*. The hatched areas are glandular. The patches (clear area) are non glandular (i.e., lack of ductule secretory units), Original



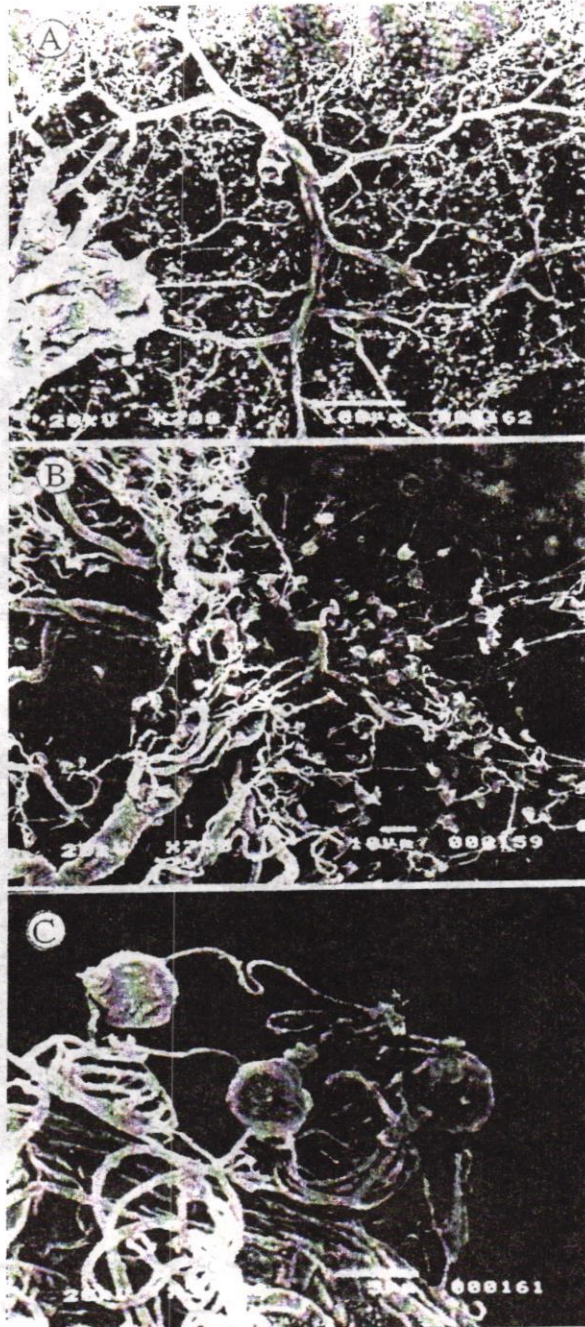
شکل ۲- الف- یکدسته از غدد فرمون و ب- یکعدد از سلولهای ترشحی در *A. acuminata* با مجرائی که وارد تراشه شده است. اقتباس از: (Staddon and Edmonds, 1991)

Fig. 2. a, clustered ducts of type 3 glands. b, individual duct of type 3 gland apparently opening into a major tracheal branch in *A. acuminata* (After Staddon and Edmonds, 1991). Scale line=0.5mm.



شکل ۳- الف: سوراخ‌های خروجی در سطح شکمی ب: غدد فرمون در لایه اکتودرم کوتیکول در *A. melanota* عکس از نویسنده

Fig. 3. Light micrographs (phase contrast) of areas of sternite of male *Aelia melanota*. A, Showing epidermal cell imprints and gland external openings (pores) located on the boundaries between adjacent imprints. B, Showing secretory cell ductules near inner face of cuticle (post-KOH). Scale line=0.5mm, Original.



شکل ۴- نمایش میکروسکوپی غدد با بزرگ‌نمایی‌های متفاوت در *A. melanota* عکس از نویسنده

Fig. 4. Scanning electron micrographs of the male sternal glands in *Aelia melanota* potashed. A., view of relatively undisturbed tracheal branching system and glands. B, part of A at high power. C, view of individual ductules, Original.

میباشند در غیر اینصورت در این نواحی جریان انتقال گرمای بدن به بیرون (تهویه) دچار مشکل میگردد.

در بررسیهای اثر هورمون جوانی در فعالیتهای جنسی سن‌های گندم نتایج زیر حاصل گردید:

۱- فعالیت غدد فرمون جنسی و تکامل دستگاه تناسلی حشره نر

یک هفته بعد از شروع آزمایش، با توجه به بوی تشخیص داده شده وانیلین اثر هورمون جوانی بر روی غدد فرمون به خوبی محسوس بود در این مقطع دو عدد از حشرات نر تیمار نشده جهت تشریح و مشاهده دستگاه تناسلی انتخاب شد. در حشرات تیمار نشده هیچگونه علائمی از رشد بیضه‌ها مشاهده نشد. ولی در حشرات تیمار شده با هورمون جوانی تغییراتی از نظر شکل، اندازه و رنگ در بیضه‌ها دیده شد. همین آزمایش بعد از دو و چهار هفته تکرار گردید و همان نتایج در هر دو حالت مشاهده شد. به نظر میرسد که بیضه‌ها بر اثر کاربرد هورمون جوانی در حالت تکاملی قرار میگیرند. این آزمایش در ایران دنبال گردید و مشاهده شد که رشد و بلوغ بیضه‌ها بعد از دو ماه به صورت طبیعی شروع شده و این موضوع با مشاهده اسپرماتوزئید در زیر میکروسکوپ تأیید گردید.

بعد از ۴ هفته، هیچگونه اثری از بوی وانیلین در حشرات نر تیمار شده دیده نشد.

۲- فعال شدن دستگاه تناسلی ماده.

کاربرد هورمون باعث القاء تخم‌ریزی ماده‌ها گردید لذا ۲ عدد از حشرات ماده بدون جفت‌گیری در حال تخم‌ریزی دیده شدند. پس از یک هفته ۲ عدد از هر کدام حشرات ماده تیمار شده و تیمار نشده جهت تشریح و مشاهده رشد تخمدان‌ها انتخاب شد.

در حشرات تیمار نشده که غذا نیز فراهم بود، هیچگونه رشدی در تخمدان‌ها، مجاری تناسلی و تخمک‌سازی مشاهده نشد. اما در هر دو حشره ماده که تیمار شده بودند (همراه و بدون غذا) مراحل اولیه رشد تخمدان‌ها و نیز تخمک‌های تکامل یافته مشاهده شد. به نظر میرسد که تخمدان‌ها در این مرحله بوسیله هورمون جوانی فعال شده باشند.

این آزمایش‌ها بعد از دو و چهار هفته تکرار گردید و همان نتایج مشاهده شد. در طول این مدت هیچگونه رشدی در تخمدان‌های حشرات تیمار نشده چه با غذا، و چه بدون غذا مشاهده نگردید.

۳- جفت‌گیری

با جفت‌گیری حشره نر و ماده تیمار شده با هورمون، تخم‌ریزی مشاهده گردید. ولی این تخم‌ها پس از گذشت دو هفته سیاه شده و هیچگونه تفریخی صورت نگرفت.

هورمون جوانی در حشره ماده جفت‌گیری نکرده باعث القاء تخم‌ریزی شد.

در جفت‌گیری حشره ماده تیمار شده با هورمون و نر تیمار نشده نیز تخم‌ریزی حادث گردید ولی در این مورد نیز تخم‌ها سیاه شده و از بین رفتند.

مقایسه تخمدان‌های حشره ماده تیمار شده و تیمار نشده در حضور غذا و بدون تغذیه نشان

میدهد که رشد مجاری تناسلی و تخمدان‌ها و نیز تخم‌سازی بر اثر کاربرد هورمون جوانی بوده است و غذا در این مرحله نقش چندانی نداشته است. از طرف دیگر آقای Picimbon و همکاران در سال ۱۹۹۵، عقیده دارند که تولید (بیوسنتز) و ترشح فرمون جنسی در حشرات مختلف بوسیله یک پپتید که از سلولهای عصبی ترشحی (Neurosecretory cells) ترشح میشود و در مغز حشره قرار دارد، کنترل میشود، و در بعضی موارد نیز نقش هورمون جوانی که از غده Corpora allata ترشح میشود دخیل میباشد. مثلاً در بعضی پروانه‌ها مثل جنس *Heliothis* تولید فرمون جنسی تحت کنترل نروپپتیدی است که بیوسنتز فرمون را فعال میکند.

این پپتید تحت عنوان Phormone Biosynthesis Activating Neuropeptide (PBAN) از گره عصبی زیرمری سرچشمه میگیرد (Raina et al., 1989). این ماده (PBAN) ممکن است مستقیماً از طریق corpora cardiaca به همولنف حشره ریخته شده و یا از طریق رشته عصبی شکمی (Ventral Nervecord) منتقل و باعث بیوسنتز فرمون جنسی گردد (Picimbon et al., 1995). ترشح PBAN در *Heliothis zea* با عوامل خارجی از قبیل فتوپریود، حرارت و به خصوص بوسیله بوهای فرار شیمیائی گیاه میزبان فعال میشود. گرچه PBAN فاکتور و علت اصلی در فعال شدن بیوسنتز فرمون جنسی است ولی حضور هورمون جوانی که از Corpora allata سرچشمه میگیرد، در این رابطه بسیار ضروری است.

نتایج مطالعات Cusson و Mcneil در سال ۱۹۸۹ نشان میدهد که هورمون جوانی (JH) در این رابطه نقش اولیه داشته و محرک موثر در ترشح PBAN میباشد (Picimbon et al., 1995). در مطالعه دیگری توسط Wicker و همکاران در سال ۱۹۹۴ نقش هورمون جوانی در تشکیل و تولید هیدروکربنهای بلند و تشکیل دهنده کوتیکول، مشخص شده است (پدیده پوست اندازی). به هرحال بیوسنتز فرمون‌ها در حشرات ممکن است بوسیله هورمون‌های دیگری نیز تنظیم شود ولی در بیشتر گونه‌های سخت بالپوشان هورمون جوانی نقش عمده در این رابطه دارد. نتایج بدست آمده در این مطالعات نشان میدهد که تغذیه در این مرحله، کمترین نقش را در بیوسنتز فرمون به عهده دارد و کارهای (Wicker & Jallon, 1994) نیز این نتایج را تأیید میکند. تجربیات ما نیز نشان میدهد که اثر فتوپریود و حرارت بر روی PBAN در پایان دادن به دیاپوز اجباری سن گندم قابل توجه میباشد (عبداللهی، ۱۳۶۷).

با جمع‌بندی مطالعات و بررسیهای انجام شده در مورد فعال سازی، بیوسنتز و تولید فرمون جنسی و نیز شکستن دیاپوز سن گندم نقش هورمون جوانی بدینصورت خلاصه و جمع‌بندی میشود.

۱- هورمون جوانی چه مستقیماً و یا از طریق اثر روی عامل عمده دیگری مثل PBAN باعث فعال شدن و بیوسنتز فرمون جنسی سن گندم *E. intergriceps* می‌گردد. وجود Vanillin که یکی از اجزاء متشکله فرمون جنسی سن گندم میباشد (Zdarek et al., 1975، عبداللهی، ۱۳۷۴) و تاکنون در هیچ یک از ترشحات غدد دیگری از جمله غدد قفسه سینه سوم و غدد بودار پشتی

حشره بدست نیامده (Aldrich, 1986)، دلیل متقن و قطعی در این رابطه است.
۲- زرنگار در سال ۱۳۷۴ حشره نر را فاقد دیاپوز میداند در صورتیکه بررسیهای ما نشان میدهد که حشره نر تا دو ماه پس از ظهور در دیاپوز اجباری است و در طول این مدت رشد گونادها و ظهور اسپرماتوزوئید دیده نشد.

کاربرد هورمون جوانی این مدت را به ۴۵ روز تقلیل میدهد (Burov et al., 1985). این محقق که برای اولین بار با کاربرد هورمون جوانی دیاپوز سن گندم را شکسته است این مقطع ۴۵ روزه بعد از ظهور حشره کامل را دوران غیرحساس حشره نر به هورمون جوانی تفسیر کرده است.

۳- براساس مطالعات قبلی عبداللهی در سال ۱۳۶۷ دیاپوز اجباری حشرات ماده در کوه بعد از پایان آذر ماه خاتمه مییابد ولی با کاربرد هورمون جوانی، میتوان رشد تخمدانها و مراحل Oogenesis را در حشره ماده مشاهده نمود.

کاربرد هورمون جوانی در بسیاری حالات باعث القاء تخم ریزی در حشره ماده گردیده و در این صورت نیز تخم های عقیم بدست خواهد آمد. بهر حال از نظر فیزیولوژیک مجموعه این مطالعات نشان میدهد که یک مرحله ناهماهنگ در رفتار جنسی حشره نر و ماده وجود داشته و رشد دستگاه های تناسلی حشرات نر و ماده و مراحل Spermatogenesis و Oogenesis به صورت هم آهنگ پیشرفت ندارد.

دیاپوز طبیعی در حشره نر دو ماه (Burov et al., 1982) و در حشره ماده تا اواخر آذر ماه (عبداللهی، ۱۳۷۴) خواهد بود. بهنظر میرسد که با کاربرد جوونوئیدها این گونه عقیم سازی نه تنها در سن گندم بلکه در سایر حشرات با دیاپوز اجباری نتایج مشابه خواهد داشت به طوریکه دیاپوز اجباری با کاربرد هورمون جوانی متوقف میشود در حالیکه هنوز گونادها رشد و تکامل نیافته اند (Burov et al., 1982).

سپاسگزاری

قسمتی از این تحقیق در آزمایشگاه فیزیولوژی دانشگاه ولز انگلستان (کاردیف) انجام گرفته است که جا دارد از همکاران در این آزمایشگاه تشکر نماید، در قسمتی از این تحقیق آقای مهندس علی زرنگار همکاری مفیدی داشته اند که از زحماتشان بدینوسیله قدردانی میشود. از زحمات جناب آقای دکتر عزیز خرازی پاکدل که در ویرایش و اصلاح مقاله قبول زحمت فرموده اند کمال تشکر را دارم و بالاخره این مقاله را به همکاران و برادرانم در بخش تحقیقات سن گندم به خاطر زحمات و صداقتشان تقدیم می کنم.

نشانی نگارنده: دکتر عباس عبداللهی، موسسه تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی، صندوق پستی ۱۴۵۴-۱۹۳۹۵ تهران.