

شناسایی و شمارش تفرقی و کل هموسیت‌های لارو پروانه‌ی سفید اشجار،
Glyphodes pyloalis و برگ‌خوار توت، *Hyphantria cunea* (Lep.: Arctiidae)
 (Lep.: Crambidae)، و بررسی تأثیر هورمون جوانی I روی این سلول‌ها

آیدین زیبایی^۱ و جلال جلالی سندی^{۲*}

۱- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ۲- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت.

*مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: jjalali@guilan.ac.ir

Identification, differential and total count on haemocytes of *Hyphantria cunea* (Lep.: Arctiidae) and *Glyphodes pyloalis* (Lep.: Crambidae), and investigation on the effect of juvenile hormone I on these cells

I. Zibae¹ and J. Jalali Sendi^{2,*}

1. Department of Plant Protection, College of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran, 2. Department of Plant Protection, College of Agriculture, University of Guilan, Rasht, Iran.

*Corresponding author, E-mail: jjalali@guilan.ac.ir

چکیده

سلول‌های خونی دو بال‌پولک‌دار به نام‌های *Hyphantria cunea* (Drury) و *Glyphodes pyloalis* Walker به وسیله‌ی میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفت. از هر گونه، ۶ نوع هموسیت بر اساس توصیف منابع شناسایی شد که عبارتند از: پروهموسیت، پلاسماتوسیت، گرانولوسیت، اتونوسیت، اسفرولوسیت و آدیپوهوسیت. هموسیت‌ها در برگ‌خوار توت کوچک‌تر از هموسیت‌های پروانه‌ی سفید اشجار بوده و این تفاوت‌ها به‌ویژه در پروهموسیت‌ها و اسفرولوسیت‌ها از وضوح بیشتری برخوردار بود. شمارش تفرقی هموسیت‌ها نشان داد که گرانولوسیت و پلاسماتوسیت در هر دو گونه از فراوان‌ترین سلول‌ها بودند که به‌ترتیب ۲۷ و ۲۳ درصد برای برگ‌خوار توت و ۲۸ و ۳۶ درصد برای پروانه‌ی سفید اشجار محاسبه شد. شمارش کل هموسیت‌ها نیز مورد بررسی قرار گرفت که در لارو برگ‌خوار توت 1800 ± 0.081 و در لارو پروانه‌ی سفید اشجار 3013.3 ± 413 سلول/میلی‌متر مکعب خون بود. هورمون جوانی I (JH I) در غلظت 0.004 میکرولیتر به ازای هر لارو، ضمن ایجاد تغییرات ساختاری در دو سلول مهم یعنی پلاسماتوسیت‌ها و گرانولوسیت‌ها، کاهش معنی‌داری در شمارش آن‌ها نسبت به شاهد ایجاد کرد.

واژگان کلیدی: *Glyphodes pyloalis*، *Hyphantria cunea*، بال‌پولک‌داران، سلول‌های خونی، هورمون جوانی

Abstract

Haemocytes of two lepidoptrans *Hyphantria cunea* (Drury) and *Glyphodes pyloalis* Walker were studied using light microscopy. Based on available literature, six types of haemocytes were recognized of each species: prohaemocyte, plasmacyte, granulocyte, oenocyte, spherulocyte and adipohaemocyte. In general, haemocytes in *G. pyloalis* were smaller than those of *H. cunea*. This difference were quiet obvious in prohaemocytes and spherulocytes. Differential haemocyte counts showed the granulocytes and plasmacytes to be the most abundant haemocytes and were recorded 27 and 23 percent for *G. pyloalis*, and also 28 and 36 percent for *H. cunea*, respectively. Total haemocyte count were also worked out that was 1800 ± 0.081 cells/mm³ for *G. pyloalis* and 3013.3 ± 413 cells/mm³ for *H. cunea*. While bringing

about major structural changes to important cell types i.e. plasmatocytes and granulocytes, the juvenile hormone I (JH I) in 0.004 $\mu\text{L}/\text{Larva}$ on topical application induced significant changes in total and differential counts compared to controls.

Key words: *Hyphantria cunea*, *Glyphodes pyloalis*, Lepidoptera, haemocytes, juvenile hormone

مقدمه

حشرات در برابر حمله‌ی عوامل بیماری‌زا و پارازیتوئیدها از واکنش‌های دفاعی سلولی و خونی استفاده می‌کنند. واکنش‌های دفاع خونی شامل تولید پپتیدهای ضد باکتری (Lowenberger, 2001)، ترکیبات اکسیژنی و نیتروژنی واکنش‌زا (Bogdan *et al.*, 2000) و سیستم پروفنل‌اکسیداز که انعقاد و یا ملانیزاسیون همولنف را تنظیم می‌کند، می‌باشد (Gillespie *et al.*, 1997; Kanost *et al.*, 2004). عوامل بیماری‌زای کوچک مانند باکتری‌ها و قارچ‌ها عموماً توسط سیستم دفاعی خونی یا فاگوسیتوز سلول‌های خونی از بین می‌روند، درحالی‌که پارازیت‌ها مانند پارازیتوئیدها و نماتدها با کپسوله‌شدن از بین می‌روند (Tepass *et al.*, 1994). سلول‌های خون حشرات بر عکس مهره‌داران نقشی در انتقال اکسیژن ندارند اما نقش اساسی در سیستم ایمنی آن‌ها دارند (Tepass *et al.*, 1994; Falleiros & Gregorio, 1995). سلول‌های خونی توانایی دفاع حشرات در برابر بیمارگرها، پارازیت‌ها و سایر عوامل خارجی که وارد هموسل می‌شوند را دارند. این واکنش‌های دفاعی توسط فاگوسیتوز، کپسوله‌کردن مهاجمان، ترمیم جراحت، تشکیل گره و انعقاد تنظیم می‌شوند (Bogdan *et al.*, 2000; Lowenberger, 2001). این سلول‌ها دارای اشکال و فعالیت متنوع هستند (Gupta, 1985; Schmidit *et al.*, 2001). شکل ظاهری این سلول‌ها از زمانی به زمان دیگر در یک حشره تغییر می‌کند و شکل آن ممکن است در جریان تنبیت، رنگ آمیزی و سایر مراحل جمع‌آوری و تهیه‌ی آن‌ها تغییر نماید. روش‌های آزمایش و طبقه‌بندی سلول‌های خونی هنوز استاندارد نشده و طبقه‌بندی‌ها و شکل‌های مختلفی از آن‌ها به چاپ رسیده است (Nation, 2002). تاکنون ۷ نوع سلول خونی از حشرات مختلف بر اساس شکل شناسایی شده‌اند که عبارتند از: پروهموسیت، پلاسماتوسیت، گرانولوسیت، ائونوسیت، اسفروولوسیت، آدیپوهموسیت و کوآگولوسیت (Jones, 1979; Gupta, 1985; Brehelin & Zachary, 1986). شناسایی و بررسی فراوانی این سلول‌ها می‌تواند گامی نخست در شناخت کارایی و یا عدم کارایی دشمنان طبیعی و حشره‌کش‌های میکروبی، سنتزی و یا با منشأ گیاهی باشد. در این بررسی، دو حشره‌ی آفت مهم استان گیلان که به درخت توت و یا

به درختان غیر مثمر، سایه‌انداز و جنگلی خسارت وارد می‌کنند، و ارزش اقتصادی فراوان دارند مورد مطالعه قرار گرفت. پروانه‌ی کوچک برگ‌خوار توت، *Glyphodes pyloalis* Walker، از آفات اختصاصی و خطرناک توت است و برای اولین بار در سال ۱۳۸۱ در استان گیلان مشاهده شد (Jafari Khaljiri et al., 2006). پروانه‌ی سفید اشجار، *Hyphantria cunea* (Drury)، اولین بار از استان گیلان در تابستان ۱۳۸۱ گزارش شد و در حال حاضر در ۱۱ شهرستان و ۲۸۵ روستای استان گیلان فعالیت دارد. این آفت بیشترین دامنه‌ی میزبانی را در بین حشرات دارد، به طوری که لاروهای آن از ۶۲۶ گونه‌ی گیاهی تغذیه می‌کند (Rezaei et al., 2004). به دلیل اینکه سلول‌های خونی در سیستم ایمنی حشره نقش ایفا می‌کنند و آن‌ها را در برابر استرس‌های ناشی از محیط و یا سموم شیمیایی و میکروبی محافظت می‌نمایند، لذا بررسی و شناخت این سلول‌ها می‌تواند گام مؤثری در مطالعات بعدی به حساب آید. بر اساس منابع موجود تاکنون گزارشی از سلول‌های خونی این دو گونه وجود ندارد.

هورمون‌های جوانی (JHs) از نظر شیمیایی به سسکوترپین‌ها تعلق دارند و توسط اجسام آلاتای حشرات ترشح می‌شوند. هورمون جوانی معمولاً به پنج شکل در حشرات مختلف دیده می‌شود که عبارتند از: JH 0، JH I، JH II، JH III و ایزوفرم JH 0 (Nation, 2002). این هورمون‌ها در تنظیم دگردیسی، تعیین کاست، رفتار، دیاپوز، پلی‌فینیزم و واکنش‌های دفاعی مشارکت دارند (Kim et al., 2008). علی‌رغم مطالعات بیشماری که در مورد نقش JHs در بسیاری از فعالیت‌های ذکر شده، صورت گرفته است ولی به نقش آن‌ها در سلول‌های خونی و واکنش‌های دفاعی مبتنی بر هموسیت‌ها به خوبی توجه نشده است. از آنجایی که هموسیت‌ها، به‌ویژه پلاسماتوسیت‌ها و گرانولوسیت‌ها، برای دفاع ذاتی حشره در برابر عوامل بیماری‌زا و پارازیتوئیدها حائز اهمیت می‌باشند (Kwon & Kim, 2007)، لذا بررسی عوامل هورمونی و نقش آن‌ها در واکنش هموسیت‌ها به عوامل بیماری‌زا و پارازیتوئیدها می‌تواند مورد توجه باشد. بررسی‌ها نشان داده است که با تزریق JH به *Tenebrio molitor* L. فرآیند کپسوله کردن در هموسیت‌ها کاهش می‌یابد (Khafagi & Hegazi, 2001; Rantala et al., 2003). یکی از موارد مربوط به عدم کارایی هموسیت‌ها در برابر مهاجمین، کاهش در تعداد این سلول‌ها و یا

تغیرات مرفولوژیکی در اثر مواد خارجی است که به بدن حشره وارد می‌شود. بررسی حاضر این دو جنبه‌ی مهم هموسیت‌ها را تحت تأثیر هورمون جوانی مورد ارزیابی قرار می‌دهد.

مواد و روش‌ها

تخم‌های دو حشره‌ی مورد مطالعه از روی برگ‌های آلوده درختان توت جمع‌آوری و در اتاق پرورش حشرات با شرایط دمایی 1 ± 25 درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی 5 ± 65 درصد و دوره‌ی نوری $10:14$ قرار داده شدند. لاروها پس از تفریح با برگ‌های تازه‌ی توت تغذیه شدند.

لاروهای ۲ روزه‌ی سن پنجم جهت بررسی هموسیت‌ها انتخاب شدند. برای هر بررسی، تعداد ۵ عدد لارو انتخاب و قبل از تهیه‌ی لام به مدت ۵ دقیقه داخل آب مقطر درون یک بشر که به نقطه‌ی 60 درجه‌ی سلسیوس رسیده بود، قرار داده شدند. سپس با قطع یکی از پاهای شکمی، یک قطره همولف استخراج و روی یک لام تمیز قرار داده شد. به کمک لام دیگر یک لایه‌ی نازک تهیه و به مدت 10 دقیقه در شرایط آزمایشگاه قرار داده شد تا کاملاً خشک شود. سپس رنگ 10 بار رقیق‌شده‌ی گیمسا که با روش Yeager (1945) تهیه شده بود، برای رنگ‌آمیزی به مدت 20 دقیقه روی لام قرار داده شد. سپس از محلول اشباع‌شده‌ی لیتوم‌کربنات جهت تمایز رنگ هسته و سیتوپلاسم استفاده شد و نهایتاً لام‌ها با آب مقطر شستشو شده و در آن 40 درجه‌ی سلسیوس خشک شدند. لام‌های دائم در کانادا بالزام تهیه شدند و برای مطالعه مورد استفاده قرار گرفتند.

جهت شناسایی و شمارش تفرقی سلول‌ها، تعداد 200 سلول از 4 گوشه‌ی لام شناسایی، شمارش و در جدول ثبت گردید. قطر سلول‌ها بر حسب میکرومتر محاسبه و تصاویر لازم از سلول‌ها نیز تهیه شد. برای بررسی شمارش کل هموسیت‌ها، یکی از پاهای شکمی قطع و همولف به داخل پیپت توما (پیپت مخصوص شمارش گلبول‌های سفید) تا درجه‌ی $0/5$ هدایت شد. سپس با محلول توبر-ایگر (Tauber & Yeager, 1934) تا حد درجه‌ی 11 پیپت رقیق گردید. پیپت برای چندین مرتبه تکانیده و سه قطره‌ی اول دور ریخته شد. سپس محلول در لام نئوبار سرازیر و هموسیت‌ها در 4 گوشه و یک منطقه‌ی مرکزی، هر کدام به ابعاد 1

میلی‌متر مربع، شمارش شد. تعداد هموسیت‌ها بر حسب سلول در میلی‌متر مکعب و بر اساس فرمول (Jones 1962) محاسبه شد.

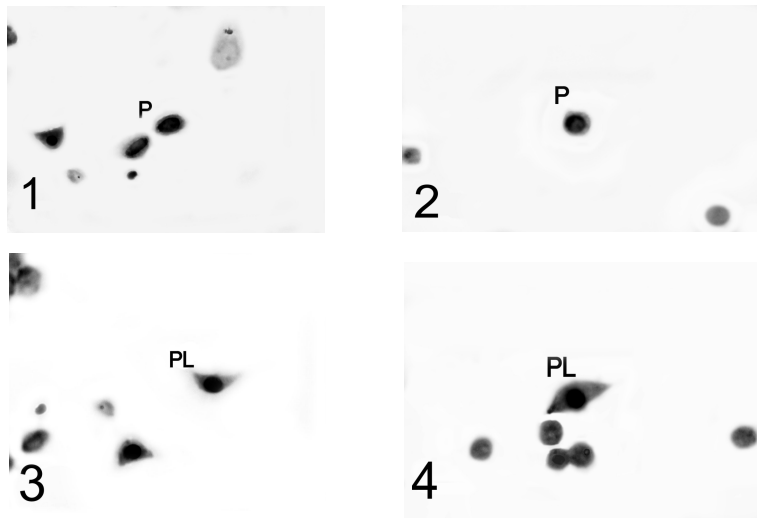
هورمون جوانی مورد استفاده در این آزمایش توسط پروفیسور Sláma از انستیتو حشره‌شناسی جمهوری چک در اختیار ما قرار گرفت. هورمون مذکور با استون رقیق شد و غلظت توصیه شده‌ی ۰/۰۰۴ میکروگرم در میکرولیتر به ازای هر لارو روی ترزیت شکمی به صورت قطره‌گذاری به کار رفت (Sláma، مکاتبات شخصی). حشرات شاهد فقط استون دریافت کردند. پس از ۷۲ ساعت، لاروها جهت بررسی‌های مرفولوژیکی هموسیت‌ها و شمارش بر اساس روش بالا مورد استفاده قرار گرفتند.

تیمار لاروهای دو حشره با JH I در غالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار و با تعداد ۱۰ حشره برای هر تکرار و با یک گروه شاهد انجام شد. آنالیز داده‌ها تحت نرم‌افزار SAS (SAS Institute, 1996) و مقایسه‌ی میانگین‌ها با آزمون توکی در سطح ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

بر اساس توصیف ارائه شده توسط Jones (1967) شش نوع هموسیت شناسایی شده‌اند که عبارتند از: پروهموسیت، پلاسماتوسیت، گرانولوسیت، اتونوسیت، اسفرولولوسیت و آدیپوهموسیت. پروهموسیت‌ها کوچک‌ترین سلول‌های خونی حشرات و سلول‌های پایه‌ای و بنیادی (stem cell) می‌باشند، یعنی این سلول‌ها تقسیم و تغییر شکل داده، و در مرحله‌ی پس‌جنینی، سایر سلول‌ها از آن‌ها منشأ می‌گیرند. این ایده تقریباً مورد قبول است که پروهموسیت‌ها طی تمایز به پلاسماتوسیت‌ها، و پلاسموسیت‌ها نیز به گرانولوسیت‌ها تبدیل می‌شوند. گرانولوسیت‌ها نیز به نوبه‌ی خود به سایر سلول‌ها تمایز می‌یابند (Nation, 2002). پروهموسیت‌ها هسته‌ی بزرگ دارند که ۷۰ تا ۸۰ درصد سلول را اشغال می‌نماید و به آن علت که سلول‌های بنیادی محسوب می‌شوند، در هیچ یک از واکنش‌های ایمنی سلولی شرکت نمی‌کنند، معمولاً فاقد حرکت‌اند و در غالب موارد به صورت گروهی دیده می‌شوند. نقش اصلی این سلول‌ها تولید سایر سلول‌های خونی در حشرات می‌باشد. پروهموسیت‌ها در تحقیق حاضر نیز مطابق تعریف فوق در مقایسه با سایر سلول‌ها دارای اندازه‌ی بسیار کوچک و

هسته‌ی مشخص بودند که هسته حجم زیادی از سلول را در بر گرفته بود. قطر پروهموسیت در لارو پروانه‌ی سفید اشجار 0.79 ± 0.07 و در برگ‌خوار توت 0.61 ± 0.04 میکرومتر محاسبه شد (شکل‌های ۱ و ۲؛ جدول ۱). فراوانی این سلول‌ها در لارو پروانه‌ی سفید اشجار و برگ‌خوار توت به ترتیب ۵ و ۷ درصد بود (جدول ۱). پروهموسیت در پروانه‌ی سفید اشجار دارای هسته‌ای تقریباً بیضوی و کمی بزرگ‌تر نسبت به کرم برگ‌خوار توت است، در صورتی‌که هسته و شکل کلی پروهموسیت در کرم برگ‌خوار توت کاملاً گرد می‌باشد. پلاسماتوسیت‌ها در حشرات مختلف شکل منظمی ندارند و در گونه‌های مختلف و مراحل رشدی مختلف به شکل‌های مختلفی دیده می‌شوند که به همین علت به آن‌ها polymorphic cells گفته می‌شود. در تحقیق حاضر این سلول‌ها در هر دو گونه به شکل دوکی مشاهده شد و هسته‌ی سلول نیز بسیار واضح و مشخص و دایره‌ای شکل بود. اهمیت



شکل‌های ۱-۴. ۱- پروهموسیت (P) در *H. cunea*، ۲- پروهموسیت در *G. pyloalis*، ۳- پلاسماتوسیت (PL) در *H. cunea*، ۴- پلاسماتوسیت در *G. pyloalis* (بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰ برابر).

Figs 1-4. 1. Prohaemocytes (P) in *H. cunea*, 2. prohaemocytes in *G. pyloalis*, 3. plasmatocytes (PL) in *H. cunea*, 4. plasmatocytes in *G. pyloalis* (1000 X).

جدول ۱. قطر (میکرومتر، میانگین \pm SE) و درصد هموسیت‌های لارو ۲ روزه‌ی سن پنجم پروانه‌ی سفید اشجار و برگ‌خوار توت.

Table 1. The width (micrometer, mean \pm SE) of different haemocytes of 2-days old 5th larval instars of *H. cunea* and *G. pyloalis* and their relative percentage.

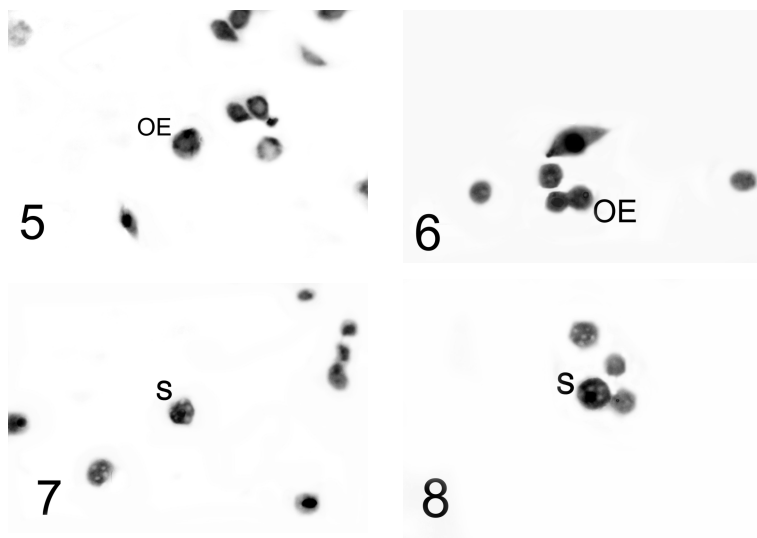
Insect	P	PL	G	OE	S	A
<i>H. cunea</i>	7.5 \pm 0.79 (5%)	14.5 \pm 0.93 (36%)	5.0 \pm 0.79 (28%)	11.0 \pm 0.61 (3%)	10.5 \pm 0.5 (19%)	10.0 \pm 0.79 (8%)
<i>G. pyloalis</i>	4.0 \pm 0.61 (7%)	8.5 \pm 0.61 (23%)	3.0 \pm 0.5 (27%)	8.5 \pm 0.61 (14%)	5.00 \pm 0.0 (14%)	7.5 \pm 0.79 (22%)

P = Prohaemocyte, PL = Plasmotocyte, G = Granulocyte, OE = Oenocyte, S = Spherulocyte, A = Adipohaemocyte.
The amounts in parentheses indicate relative percentage of each haemocyte type.

پلاسموسیت‌ها در سیستم ایمنی و خون حشرات و شرکت این سلول‌ها در فرآیندهایی مانند فاگوسیتوز، تشکیل کپسول، تشکیل گره و ترمیم زخم‌ها، و به‌طور کلی اکثر فرآیندهای ایمنی سلولی می‌باشد. پلاسموسیت‌ها در لارو پروانه‌ی سفید اشجار و برگ‌خوار توت به‌ترتیب ۳۶ و ۲۳ درصد کل هموسیت‌ها را تشکیل دادند و قطر آن‌ها نیز به‌ترتیب 0.93 ± 14.5 و 0.61 ± 4.0 و 0.79 ± 10.0 میکرومتر محاسبه شد (جدول ۱). این سلول‌ها بزرگ‌ترین سلول‌های هر دو گونه را شامل می‌شدند (شکل‌های ۳ و ۴).

ائونوسیت‌ها هسته‌ی کوچک اما سیتوپلاسم حجیم و بزرگ دارند. این سلول‌ها فاقد حرکت بوده و دیواره‌ی سلولی آن‌ها مانند گرانولوسیت‌ها شکننده است. ائونوسیت‌ها عموماً کمتر از ۵ درصد سلول‌های خونی حشره را تشکیل می‌دهند. در تحقیق حاضر، این سلول‌ها دارای شکلی گرد با هسته‌ی کوچک بودند که در حاشیه‌ی سیتوپلاسم قرار می‌گرفت (شکل‌های ۵ و ۶) و قطر آن‌ها 0.61 ± 11 میکرومتر در پروانه‌ی سفید اشجار با فراوانی ۳ درصد، و 0.61 ± 8.5 میکرومتر در برگ‌خوار توت با فراوانی ۱۴ درصد محاسبه شد (جدول ۱). هسته‌ی آن‌ها در مقایسه با سیتوپلاسم بسیار کوچک می‌باشد.

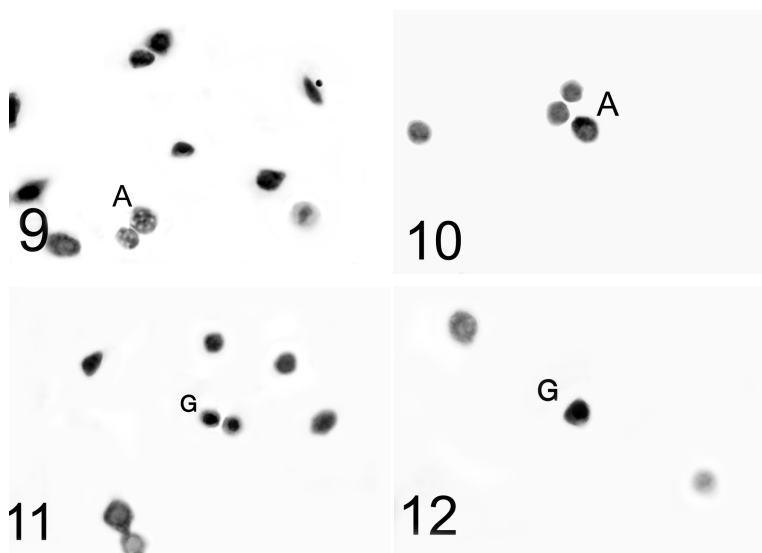
اسفرولوسیت‌ها سلول‌های گرد و فاقد حرکت بوده و خاصیت فاگوسیتوزی دارند. درون آن‌ها ذرات گرد به اندازه‌ی ۱ تا ۵ میکرون دیده می‌شود که واکوئل مانند به نظر می‌آیند و نقش آن‌ها هنوز مشخص نمی‌باشد اما گفته می‌شود که ممکن است نقش ذخیره‌ای داشته باشند و در برخی حشرات گفته می‌شود که در انتقال مواد سازنده‌ی کوتیکول نقش دارند. این سلول‌ها در



شکل‌های ۵-۸. ۵- ائونوسیت (OE) در *H. cunea*، ۶- ائونوسیت در *G. pyloalis*، ۷- اسفرولوسیت (S) در *H. cunea*، ۸- اسفرولوسیت در *G. pyloalis* (بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰ برابر).

Figs 5-8. 5. Oenocytes (OE) in *H. cunea*, 6. oenocytes in *G. pyloalis*, 7. spherulocytes (S) in *H. cunea*, 8. spherulocytes in *G. pyloalis* (1000 X).

حشرات دارای دگردیسی ناقص وجود ندارند. در تحقیق حاضر سلول‌های مذکور تقریباً بیضوی و با تعداد زیادی واکوئل و هسته‌ی کوچک تقریباً واقع در وسط سلول مشاهده شدند (شکل‌های ۷ و ۸). قطر آن‌ها در پروانه‌ی سفید اشجار $10/5 \pm 0/5$ میکرومتر با فراوانی ۱۹ درصد و $5 \pm 0/0$ میکرومتر در برگ‌خوار توت با فراوانی ۱۴ درصد محاسبه شد (جدول ۱). آدیپوهموسیت‌ها معمولاً سلول‌هایی با اندازه‌ی متوسط، گرد، بیضوی و دارای واکوئل‌های اشباع شده از چربی هستند. هسته معمولاً کوچک و در برخی موارد نیز زوائدی روی غشا دارد. در تحقیق کنونی نیز این سلول‌ها دارای واکوئل‌های فراوان و هسته‌ی نامشخص بودند (شکل‌های ۹ و ۱۰). قطر آن‌ها در پروانه‌ی سفید اشجار $10 \pm 0/79$ میکرومتر با فراوانی ۸ درصد و در برگ‌خوار توت $7/5 \pm 0/79$ میکرومتر با فراوانی ۲۲ درصد بود (جدول ۱).



شکل‌های ۹-۱۲. ۹- آدیپوهموسیت (A) در *H. cunea*، ۱۰- آدیپوهموسیت در *G. pyloalis*، ۱۱- گرانولوسیت (G) در *H. cunea*، ۱۲- گرانولوسیت در *G. pyloalis* (بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰ برابر).

Figs 9-12. 9. Adipohaemocytes (A) in *H. cunea*, 10. adipohaemocytes in *G. pyloalis*, 11. granulocytes (G) in *H. cunea*, 12. granulocytes in *G. pyloalis* (1000 X).

گرانولوسیت‌ها معمولاً گرد و بیضوی بوده و در مقایسه با پلاسماتوسیت‌ها هسته‌ی آن‌ها کوچک‌تر می‌باشد. این سلول‌های خونی، سلول‌های شکننده (fragile cell) هستند، به این معنی که هنگام برخورد به جسم خارجی دیواره‌ی آن‌ها پاره شده و محتویات داخلی سلول آزاد می‌شود. همچنین، این سلول‌ها در فاگوسیتوز، تشکیل کپسول و انعقاد خون نقش دارند، بنابراین مانند پلاسماتوسیت‌ها در کلیه‌ی فرآیندهای سیستم ایمنی حشره شرکت می‌کنند. در این تحقیق، قطر و فراوانی گرانولوسیت‌ها در گونه‌ی *H. cunea*، به ترتیب 5 ± 0.79 میکرومتر و ۲۸ درصد، و در *G. pyloalis*، 3 ± 0.5 میکرومتر و ۲۷ درصد محاسبه شد (شکل‌های ۱۱ و ۱۲، جدول ۱).

بررسی حاضر در بسیاری از توصیفات ارائه شده از نظر شکل و فراوانی با منابع موجود در مورد سایر پروانه‌ها مطابقت دارد. برای مثال، (Jalali & Salehi, 2008) فراوانی پروهموسیت‌ها را در پروانه‌ی *Papilio demoleus* L. در حدود ۳/۶ درصد در اواسط سن پنجم شمارش کرده‌اند که این نسبت در دو گونه‌ی مورد مطالعه‌ی حاضر ۵ و ۷ درصد بود. همچنین به‌طور مشابه، در تحقیقات این محققین و (Andrade et al., 2003)، فراوان‌ترین سلول‌های خونی، پلاسماتوسیت‌ها و گرانولوسیت‌ها گزارش شده‌اند. یکی از تفاوت‌های محسوس تحقیق حاضر با بررسی‌های محققین مذکور در مورد پروانه‌ها، عدم حضور دو زیرتپ گزارش شده از پلاسماتوسیت‌ها به نام‌های ورمیسیت و پودوسیت (واسطه‌هایی هستند که به سلول‌های دیگر تبدیل می‌شوند) است.

گرانولوسیت‌ها نیز به مانند پلاسماتوسیت‌ها، در فرآیند کپسوله کردن انگل‌ها مشارکت دارند. در حقیقت این سلول‌های گرانولوسیت هستند که به سطح مهاجم حمله کرده و سپس پلاسماتوسیت‌ها به آن‌ها می‌پیوندند (Chapman, 1998). از آنجایی که پس از به شفیره رفتن لاروها بسیاری از بافت‌ها از بین رفته و با بافت‌های در حال تشکیل حشره‌ی کامل جایگزین می‌گردد، لذا حضور پرتعداد گرانولوسیت‌ها در سن پنجم لاروی بسیار محتمل بوده و سپس مقدار آن‌ها کاهش پیدا می‌کند (Jalali & Salehi, 2008). در تحقیق (Falleiros & Gregorio, 1995) روی سلول‌های خونی کرم ساقه‌خوار نیشکر، *Diatraea saccharalis* Fabrici، حداکثر فراوانی سلول‌های پلاسماتوسیت، گرانولوسیت، اسفرولوسیت، ائونوسیت و پروهموسیت به ترتیب برابر ۲۹٪، ۳۵/۵٪، ۳۲/۷٪، ۵/۳٪ و ۴/۱٪ محاسبه، و سلول ورمیسیت مشاهده گردید. این فراوانی در تحقیق کنونی برای لارو پروانه‌ی سفید اشجار به ترتیب برابر ۳۶٪، ۲۸٪، ۱۹٪، ۳٪ و ۵٪ و برای برگ‌خوار توت به ترتیب برابر ۲۳٪، ۲۷٪، ۱۴٪، ۱۴٪ و ۷٪ بود (جدول ۱). همچنین، سلول ورمیسیت در این دو گونه مشاهده نشد، اما هر دو گونه دارای آدیپوهموسیت بودند. در تحقیقات (Al-Harini & Suhail, 2001) روی ملخ صحرائی، *Schistocerca gregaria* Forsk، نیز پنج نوع سلول خونی پلاسماتوسیت، گرانولوسیت، اسفرولوسیت، ائونوسیت و پروهموسیت شناسایی و فراوانی آن‌ها به ترتیب برابر ۱۶/۴٪، ۱۸/۹٪، ۱۸/۶٪، ۹٪ و ۳۷/۲٪ محاسبه شد که فراوانی برخی سلول‌ها مانند پروهموسیت‌ها و پلاسماتوسیت‌ها تفاوت قابل ملاحظه‌ای را با

تحقیق حاضر نشان می‌دهد. در مطالعه‌ای که توسط Brayer *et al.* (2004) روی سلول‌های خونی پشه‌ی *Culex quinquefasciatus* L. انجام شد، شش نوع سلول خونی پلاسماتوسیت، گرانولوسیت، اسفرولوسیت، ائونسیت، پروهموسیت و آدیپوهموسیت، به ترتیب با فراوانی ۴/۴۳٪، ۳/۴٪، ۱/۱۶٪، ۴/۶٪، ۹/۳٪ و ۰/۸٪، شناسایی شد که باز هم تفاوت قابل ملاحظه‌ای از نظر فراوانی بین پلاسموسیت‌ها، گرانولوسیت‌ها و ائونسیت‌های این گونه با گونه‌های مورد مطالعه در تحقیق کنونی مشاهده می‌شود. همچنین، در مطالعه‌ی Brayer *et al.* (2004)، اندازه‌ی سلول‌های پلاسماتوسیت، گرانولوسیت، اسفرولوسیت، ائونسیت، پروهموسیت و آدیپوهموسیت به ترتیب برابر ۲۲-۶، ۱۳-۸، ۱۰-۸، ۱۳-۸، ۱۵-۸ میکرومتر محاسبه گردید که با در نظر گرفتن اندازه‌ی محاسبه شده برای این سلول‌ها در تحقیق حاضر (جدول ۱)، پلاسماتوسیت و گرانولوسیت لارو پروانه‌ی سفید اشجار و کرم برگ‌خوار توت تفاوت قابل ملاحظه‌ای با پشه‌ی مذکور داشته، ولی در کل، اندازه‌ی این سلول‌ها در کرم برگ‌خوار توت نزدیکی بیشتری به پشه دارد.

شمارش کل هموسیت‌ها نیز مورد بررسی قرار گرفت که در لارو برگ‌خوار توت $1800 \pm 0/081$ و در لارو پروانه‌ی سفید اشجار $413 \pm 3013/03$ سلول در میلی‌متر مکعب محاسبه شد (جدول ۲). تعداد کل هموسیت نسبت به حجم همولف پدیده‌ای متغیر و معمولاً طی دوران رشدی متفاوت است، و به‌طور اخص، در دوران دگرذیسی و حذف اندام‌های غیر ضروری مقدار آن به شدت تغییر می‌کند. در حشرات راسته‌های مختلف، و حتی در خود بال‌پولک‌داران، نیز مقدار آن با توجه به اندازه‌ی حشره و حجم همولف تغییر می‌یابد. برای مثال، در سن پنجم *P. demoleus* مقدار آن حدود ۱۴۰۰۰ سلول در میلی‌متر مکعب همولف (Jalali & Salehi, 2008) و در *Anticarsia gemmatalis* Hübner ۹۳۲۷ میلی‌متر مکعب همولف گزارش شده است (Andrade *et al.*, 2003). عدد مذکور در سن ششم *Spodoptera litura* Fabricius به مراتب بیشتر، یعنی ۲۳۰۰۰ تا ۲۹۰۰۰ به ثبت رسیده است (Sharma *et al.*, 2003). در هر صورت عوامل متعددی می‌تواند این مقدار را تغییر دهد که نسبت به نوع عامل، تنوع در کاهش و حتی افزایش قابل انتظار است. لذا استعمال هورمون جوانی I با این هدف که چه تغییراتی را می‌تواند در کیفیت و کمیت سلول‌ها ایجاد کند در دز توصیه شده به‌کار گرفته شد

و نشان داد که کاهش ۵۰ درصدی در مقدار این سلول‌ها در هر دو گونه داشته است (جدول ۲).

جدول ۲. تعداد کل سلول‌های خونی لارو کرم برگ‌خوار توت و پروانه‌ی سفید اشجار قبل (شاهد) و ۷۲ ساعت پس از تیمار با هورمون جوانی I.

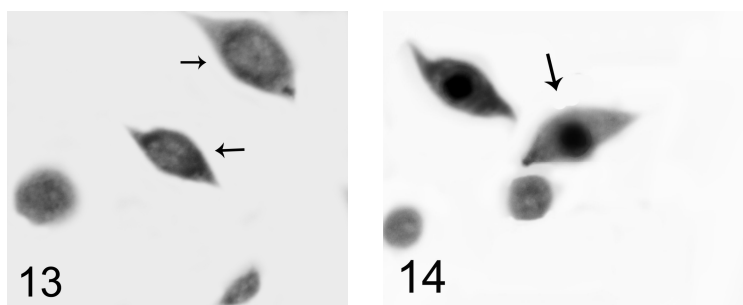
Table 2. Total haemocyte counts of the larvae of *G. pyloalis* and *H. cunea* before (control) and 72 h after treatment with juvenile hormone I.

Insect	Total haemocytes (untreated/Control)	Total haemocytes (treated)
<i>H. cunea</i>	3013.3 ± 413a	1373.3 ± 74.23a
<i>G. pyloalis</i>	1800 ± 0.081b	920 ± 23.09b

Number of observation = 3. Different letters in the same column indicate significant difference ($p < 0.05$).

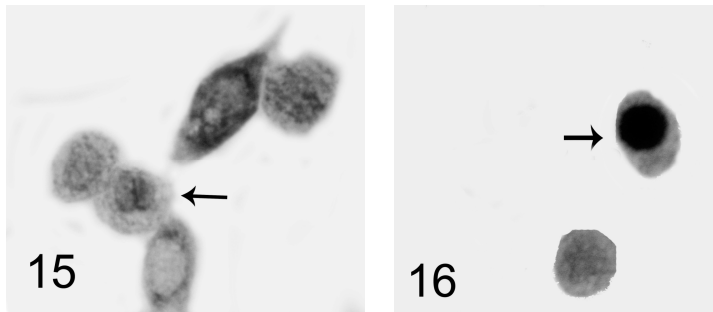
این نتایج با تعدادی از تحقیقات صورت گرفته شباهت دارد. برای مثال، تزریق هورمون جوانی به *T. molitor*، از فرآیند کپسوله کردن هموسیت‌ها جلوگیری کرد که دلیل اصلی آن تنزل عمل هموسیت‌سازی و جلوگیری از تمایز سلولی است (Rantala et al., 2003). همچنین، بررسی‌های به عمل آمده در مورد نقش هورمون جوانی در لارو کرم برگ‌خوار چغندر و مقایسه‌ی آن با پریکوسن که ضد هورمون جوانی است، محققین را به این نتیجه رسانید که هورمون جوانی سبب کاهش فعالیت‌های هموسیت‌ها می‌شود و فعالیت‌هایی نظیر هماتوپوز، تمایز و تکثیر سلولی، کاهش تیروزین و فنل‌اکسیداز مشاهده می‌شود که فعالیت‌های طبیعی حشره در برابر عوامل بیماری‌زا و پارازیتوئیدها می‌باشد و این فعالیت‌ها با تزریق پریکوسن بر عکس می‌شود (Khafagi & Hegazi, 2001). حشره‌کش‌های با منشاء چریش سبب کاهش هموسیت در *Danais chrysippus* L. (Pandey et al., 2008) و در *S. litura* (Sharma et al., 2003) شد. دلایل ذکر شده در این منابع نشان می‌دهد که این مواد همانند سم عمل کرده و سلول‌های خونی را دچار تغییرات ساختاری می‌نمایند. در بررسی حاضر نیز تغییرات مشابه نظیر عدم وجود هسته در پلاسماتوسیت، دو هسته‌ای شدن گرانولوسیت، پدیده‌ی تشکیل توده (کلامپینگ) در گرانولوسیت و تشکیل واکوئل در هر دو حشره‌ی تیمار شده مشاهده شد (شکل‌های ۳۴-۱۳). شباهت زیادی بین تغییرات ایجاد شده در بررسی حاضر و تغییرات ایجاد شده در هموسیت‌های این دو حشره، مشابه سایر حشرات و نسبت به مواد مختلف از قبیل

حشره‌کش‌های مصنوعی (Zaidi & Khan, 1977; Azam & Ilyas, 1986; Younes *et al.*, 1999) و حشره‌کش‌های با منشاء گیاهی (Saxena & Tikku, 1990; Sharma *et al.*, 2003; Pandey *et al.*, 2008) مشاهده می‌شود. شباهت ظاهری تغییرات ایجاد شده گمراه کننده است چرا که حیات سلول به میتوز و تمایز آن وابسته می‌باشد و اگر این اعمال مختل شود مرگ سلول به وقوع خواهد پیوست و تغییرات ایجاد شده قبل از مرگ سلول به اشکالی است که در مشاهدات حاضر دیده شده است (عدم وجود هسته در پلاسماتوسیت، دو هسته‌ای شدن گرانولوسیت، پدیده‌ی کلامپینگ در گرانولوسیت و تشکیل واکوئل). بیشترین تأثیر هورمون در بررسی حاضر روی سلول‌های مهم یعنی پروهموسیت‌ها، پلاسماتوسیت‌ها و گرانولوسیت‌ها مشاهده شد (جدول ۳). سلول پروهموسیت، پیش‌ساز سایر سلول‌ها، و دو سلول بعدی، از سلول‌های درگیر در فرآیند کپسوله کردن و تشکیل گره در حذف عوامل خارجی محسوب می‌شوند (Nation, 2002). دلیل احتمالی کاهش محسوس این سلول‌ها و تغییرات شدید مرفولوژیکی، حضور JH اضافه در همولمف و جلوگیری از فرآیند میتوز پروهموسیت و تمایز است. مطالعه‌ی حاضر می‌تواند راه‌گشای مطالعات بعدی روی سیستم ایمنی این دو آفت مهم اقتصادی باشد.



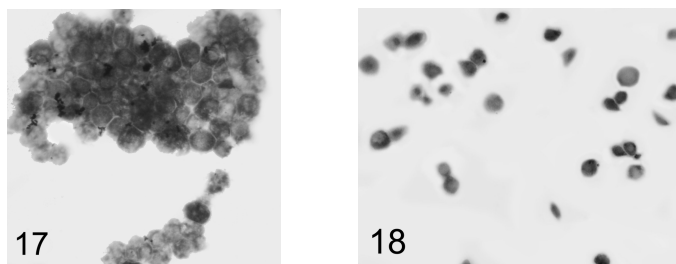
شکل‌های ۱۳-۱۴. ۱۳- عدم وجود هسته در پلاسماتوسیت‌های *H. cunea* در مقایسه با شاهد (۱۴) (بزرگ‌نمایی ۲۰۰۰ برابر).

Figs 13-14. 13. Absence of nucleus in plasmatocytes of *H. cunea* compared to the control (14) (2000 X).



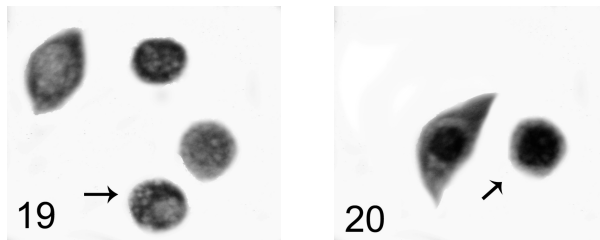
شکل‌های ۱۶-۱۵. دو هسته‌ای شدن گرانولوسیت‌های *H. cunea* در مقایسه با شاهد (۱۶) (بزرگ‌نمایی ۲۰۰۰ برابر).

Figs 15-16. 15. Binucleation of granulocytes in *H. cunea* compared to the control (16) (2000 X).



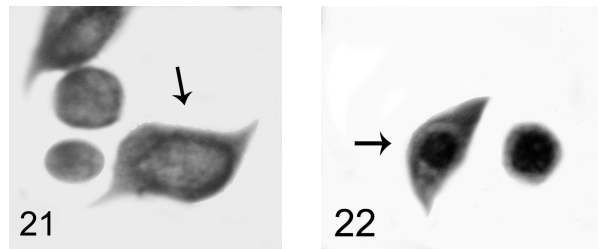
شکل‌های ۱۸-۱۷. پدیده‌ی کلامپینگ در گرانولوسیت‌های *H. cunea* در مقایسه با شاهد (۱۸) (بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰ برابر).

Figs 17-18. 17. Clumping in granulocytes in *H. cunea* compared to the control (18) (1000 X).



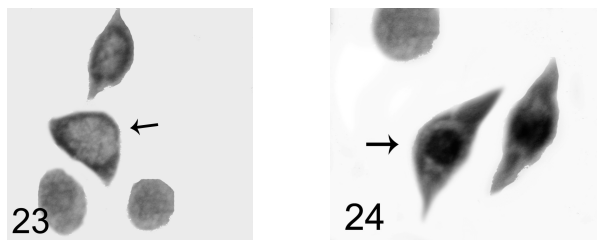
شکل‌های ۱۹-۲۰. ۱۹- تشکیل واکوئل در گرانولوسیت‌های *H. cunea* در مقایسه با شاهد (۲۰) (بزرگ‌نمایی ۲۰۰۰ برابر).

Figs 19-20. 19. Vacuolization in granulocytes in *H. cunea* compared to the control (20) (2000 X).



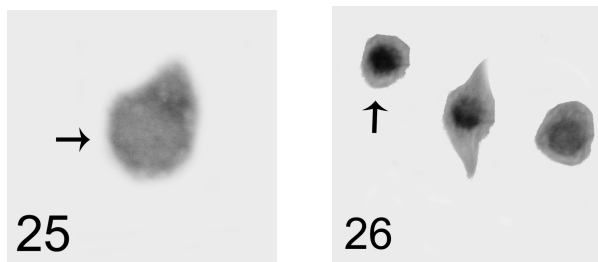
شکل‌های ۲۱-۲۲. ۲۱- عدم وجود هسته در پلاسماتوسیت‌های *G. pyloalis* در مقایسه با شاهد (۲۲) (بزرگ‌نمایی ۲۰۰۰ برابر).

Figs 21-22. 21. Absence of nucleus in plasmatocytes of *G. pyloalis* compared to the control (22) (2000X).



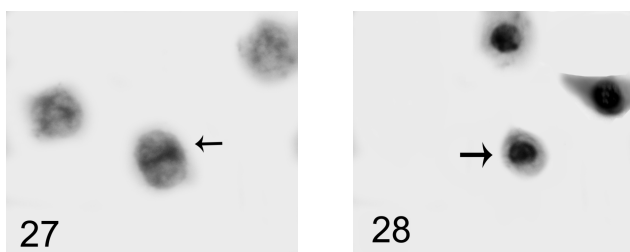
شکل‌های ۲۳-۲۴. ۲۳- دایره‌ای شدن سلول و عدم وجود هسته در پلاسماتوسیت‌های *G. pyloalis* در مقایسه با شاهد (۲۴) (بزرگ‌نمایی ۲۰۰۰ برابر).

Figs 23-24. 23. Rounding of cells and absence of nucleus in plasmotocytes of *G. pyloalis* compared to the control (24) (2000 X).



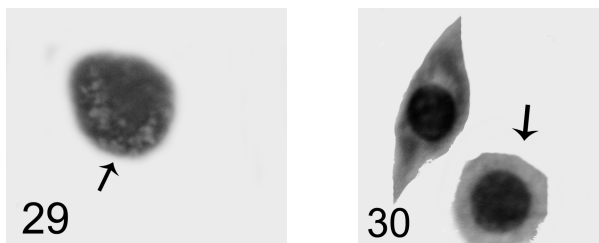
شکل‌های ۲۵-۲۶. ۲۵- عدم وجود هسته در گرانولوسیت‌های *G. pyloalis* در مقایسه با شاهد (۲۶) (بزرگ‌نمایی ۲۰۰۰ برابر).

Figs 25-26. 25. Absence of nucleus in granulocytes of *G. pyloalis* compared to the control (26) (2000 X).



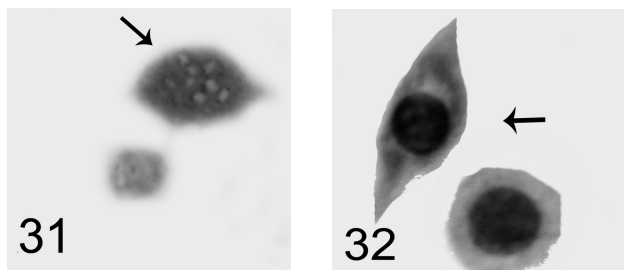
شکل‌های ۲۷-۲۸، ۲۷-۲۸- دو هسته‌ای شدن گرانولوسیت‌های *G. pyloalis* در مقایسه با شاهد (۲۸) (بزرگ‌نمایی ۲۰۰۰ برابر).

Figs 27-28. 27. Binucleation of granulocytes in *G. pyloalis* compared to the control (28) (2000 X).



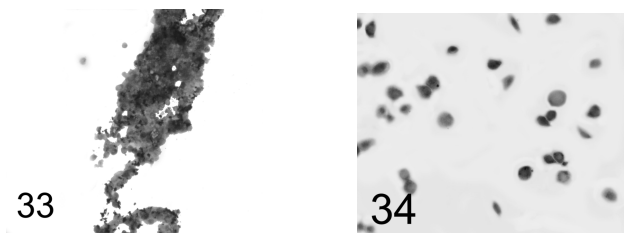
شکل‌های ۲۹-۳۰، ۲۹-۳۰- تشکیل واکوئل در گرانولوسیت‌های *G. pyloalis* در مقایسه با شاهد (۳۰) (بزرگ‌نمایی ۲۰۰۰ برابر).

Figs 29-30. 29. Vacuolization in granulocytes in *G. pyloalis* compared to the control (30) (2000 X).



شکل‌های ۳۱-۳۲. تشکیل واکوئل در پلاسماتوسیت‌های *G. pyloalis* در مقایسه با شاهد (۳۲) (بزرگ‌نمایی ۲۰۰۰ برابر).

Figs 31-32. 31. Vacuolization in plasmatocytes in *G. pyloalis* compared to the control (32) (2000 X).



شکل‌های ۳۳-۳۴. پدیده‌ی کلامپینگ در گرانولوسیت‌های *G. pyloalis* در مقایسه با شاهد (۳۴) (بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰ برابر).

Figs 33-34. 33. Clumping in granulocytes in *G. pyloalis* compared to the control (34) (1000 X).

جدول ۳. قطر (میکرومتر) سه نوع از هموسیت‌های لارو سن پنجم پروانه‌ی سفید اشجار و برگ‌خوار توت پس از تیمار با هورمون جوانی I.

Table 3. The width (micrometers) of three haemocytes of 5th larval instars of *H. cunea* and *G. pyloalis* after treatment with juvenile hormone I.

Insect	Prohaemocyte	Plasmatocyte	Granulocyte
<i>H. cunea</i>	4 ± 0.0	3.33 ± 0.33	4.66 ± 0.33
<i>G. pyloalis</i>	4 ± 0.57	3.33 ± 0.33	5.66 ± 0.33

سپاس‌گذاری

نگارندگان مراتب تشکر خود را از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه گیلان به جهت در اختیار قرار دادن اعتبار لازم برای انجام تحقیق ابراز می‌دارند. در ضمن از کمال لطف آقای پروفیسور Sláma از آکادمی علوم جمهوری چک برای در اختیار قرار دادن هورمون جوانی I قدردانی می‌شود.

منابع

- Al-Harini, M. K. & Suhail, A.** (2001) Effect of lambda-cyhalothrin and deltamethrin on the hemocyte of desert locust, *Schistocerca gregaria* (Forsk) (Orthoptera: Acrididae). *International Journal of Agriculture and Biology* 3(1), 81-84.
- Andrade, F. G. de., Negreiro, M. C. de., Gregorio, E. A., Moscardi, F. & Falleiros, A. M. F.** (2003) Hemocytes of *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) larvae: morphological and quantitative studies. *Acta Microscopica* 12(1), 59-63.
- Azam, A. F. & Ilyas, M.** (1986) The effects of BHC on the hemocytes of *Dysdercus cingulatus* (Pyrrhocoridae: Hemiptera). *Biologia (Lahore)* 32, 23-28.
- Bogdan, C., Rollinghof, M. & Diefenbach, A.** (2000) Reactive oxygen and reactive nitrogen intermediates in innate and specific immunity. *Current Opinion in Immunology* 12, 64-76.
- Brayer, F., Araujo, H. R. C., Cavalcanti, M. G. S., Alves, L. C. & Peixoto, C. A.** (2004) Ultrastructural characterization of the hemocytes of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Micron* 36, 352-367.
- Brehlin, M. & Zachary, D.** (1986) Insect hemocytes: a new classification to rule out the controversy. pp. 37-48 in Brehlin, M. (Ed.) *Immunity in invertebrates: cells, molecules and defense reactions*. 233 pp. Heidelberg: Springer-Verlag.
- Chapman, R. F.** (1998) *The Insects; Structure and Function*. 770 pp. Cambridge University Press.
- Falleiros, A. M. F. & Gregorio, E. A.** (1995) Hemocitos fagocitarios em larvas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera, pyralidae). *Revista Brasileira de Zoologia* 12(4) 751-758.
- Gillespie, J. P., Kanost, M. R. & Trenczek, T.** (1997) Biological mediators of insect immunity. *Annual Review of Entomology* 42, 611-643.

- Gupta, A. P.** (1985) Cellular element in the hemolymph. pp. 402-444 in Kerkut, G. A. & Gillbert, L. I. (Eds) *Comprehensive insect physiology biochemistry and pharmacology*. 8536 pp. Oxford: Pergamon Press.
- Jafari Khaljiri, U., Rezaei, V. & Zargarpour, P.** (2006) Biology of mulberry pyralid *Glyphodes pyloalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae) a new mulberry pest in Guilan province. *Proceedings of 17th Iranian Plant Protection Congress, Vol. I. Pests*, p. 257.
- Jalali, J. & Salehi, R.** (2008) The hemocyte types, differential and total count in *Papilio demoleus* L. (Lepidoptera: Papilionidae) during post-embryonic development. *Munis Entomology & Zoology* 3(1), 199-216.
- Jones, J. C.** (1962) Current concepts concerning insect hemocytes. *American Zoologist* 2, 209-246.
- Jones, J. C.** (1967) Changes in the hemocyte picture of *Galleria mellonella* L. *Biological Bulletin (Woods Hole)* 132, 211-221.
- Jones, J. C.** (1979) Pathways and pitfall in the classification and study of insect hemocyte. pp. 279-300 in Gupta, A. P. (Ed.) *Insect hemocyte: development forms, function and techniques*. Cambridge University Press.
- Kanost, M. R., Jiang, H. & Yu, X. Q.** (2004) Innate immune responses of a lepidopteran insect, *Manduca sexta*. *Immunological Reviews* 198, 97-105.
- Khafagi, W. E. & Hegazi, E. M.** (2001) Effects of juvenile hormones and precocenes on the immune response of *Spodoptera littoralis* larvae to supernumerary larvae of the solitary parasitoid, *Microplitis rufiventris* Kok. *Journal of Insect Physiology* 47, 1249-1259.
- Kim, Y., Jung, S. & Madanogopal, N.** (2008) Antagonistic effect of juvenile hormone on hemocyte-spreading behavior of *Spodoptera exigua* in response to an insect cytokine and its putative membrane action. *Journal of Insect Physiology* 54, 909-915.
- Kwon, S. & Kim, Y.** (2007) Immunosuppressive action of pyriproxyfen, a juvenile hormone analog, enhances pathogenicity of *Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki* against diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). *Biological Control* 42, 72-76.
- Lowenberger, C.** (2001) Innate immunue response of *Aedes aegypti*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 31, 219-229.
- Nation, J. L.** (2002) *Insect physiology and Biochemistry*. 485 pp. Florida CRC press.

- Pandey, J. P., Tiwari, R. K. & Kumar, D.** (2008) Reduction in hemocyte mediated immune response in *Danaus chrysippus* following treatment with neem-based insecticides. *Journal of Entomology* 5 (3), 200-206.
- Rantala, M. J., Vainikka, A. & Kortet, R.** (2003) The role of juvenile hormone in immune function and pheromone production trade-off: a test of the immunocompetence of handicap principle. *Proceedings of Royal Society London, Series B (Biological Sciences)* 270, 2257-2261.
- Rezaei, V., Moharrampour, S., Fathipour, Y. & Talebi, A. A.** (2004) Biological study of American white webworm: *Hyphantria cunea* Drury (Lep.: Arctiidae) in Guilan province. *Proceedings of 16th Iranian Plant Protection Congress, Vol. I. Pests*, p. 336.
- SAS Institute** (1996) *SAS/STAT user's guide, release 6.12*. SAS Institute Inc, Cary.
- Saxena, B. P. & Tikku, K.** (1990) Effects of plumbagin on the hemocytes of *Dysdercus koenigii* F. *Proceedings of Indian Academic Science (Animal Science)* 99, 119-124.
- Schmidit, O., Theopold, U. & Strand, M.** (2001) Innate immunity and its evasion and by hymenoptera endoparasitoid. *Bioassay* 23, 344-351.
- Sharma, P. R., Sharma, O. P. & Saxena, B. P.** (2003) Efficacy of neem gold on hemocytes of the tobacco armyworm, *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae). *Current Science* 84, 41 690-695.
- Tepass, U., Fessler, L. I., Aziz, A. & Hestensein, V.** (1994) Embryonic origin of hemocytes and their relationship to cell death in *Drosophila*. *Development* 120, 1829-1837.
- Tauber, O. E. & Yeager, J. F.** (1934) On the total blood (hemolymph) cell count of the field cricket *Gryllus assimilis pennsylvanicus* Bureau of Iowa State College. *Journal of Sciences* 9, 13-24.
- Yeager, J. F.** (1945) The blood picture of the Southern armyworm (*Prodenia eridania*). *Journal of Agricultural Research* 71, 1-40.
- Younes, M. W. F., Abou El Ela, R. G. & El-Mhasen, M. A.** (1999) Effect of certain insecticides on the hemocytes of the lesser cotton leafworm *Spodoptera exigua* (HB.) (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Union Arab Biology, Cairo* 11, 435- 457.
- Zaidi, Z. S. & Khan, M. A.** (1977) Effects of aldrin and dipterex on the hemocytes of red cotton bug *Dysdercus cingulatus* Fabr. (Hemiptera: Pyrrhocoridae). *Botyu-Kagaku* 42, 141-148.