

تأثیر مشرک‌کش ایمونیت[®] روی بقا و فعالیت آنزیم‌های سم‌زدای مشرات بالغ زنبورعسل کارگر*Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae)وحید قاسمی^۱، علی صالحی‌نژاد^۲، محمد قدمیاری^۳ و محبوبه شریفی^۴

۱- بخش زنبورعسل، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

✉ vghasemi@ut.ac.ir

id https://orcid.org/0000-0002-0616-1791

۲- گروه گیاهپزشکی، مؤسسه آموزش عالی غیردولتی-غیرانتفاعی بهاران، گرگان، ایران

✉ alisalehi6356@gmail.com

۳- گروه گیاهپزشکی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت.

✉ ghadamyari@guilan.ac.ir

id https://orcid.org/0000-0001-7258-6838

۴- بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گلستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گرگان، ایران

✉ m.sharify@areeo.ac.ir

id https://orcid.org/0000-0002-6417-0119

چکیده: آلفاسایپرمترین+تفلوبنزورون (ایمونیت[®]) حشره‌کشی است که توسط سازمان حفظ نباتات ایران برای کنترل کرم میوه‌خوار (*Helicoverpa armigera* Hübner) در مزارع گوجه‌فرنگی توصیه می‌شود. در این پژوهش، تأثیر ایمونیت[®] روی بقای حشرات بالغ زنبورعسل کارگر (*Apis mellifera* L.) در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. زنبورهای تازه‌متولدشده (با سن کمتر از ۲۴ ساعت) و چراگر (با سن بیشتر از ۲۱ روز) به سه روش تماس با باقی‌مانده، گوارشی، و پاششی با دُز توصیه‌شده مزرعه‌ای این حشره‌کش تیمار شدند. همچنین، اثرات زیرکشدگی ایمونیت[®] روی فعالیت ویژه برخی از آنزیم‌های سم‌زدا از قبیل آلفا-استراز، بتا-استراز، و گلوکاتانیون اس-ترانسفراز مورد مطالعه قرار گرفت. آزمایش‌های زیست‌سنجی نشان داد که سمیت ایمونیت[®] با توجه به مرحله رشدی زنبورعسل (زنبورهای تازه‌متولدشده و زنبورهای چراگر) و روش کاربرد حشره‌کش فرق داشت. به استثنای روش پاششی، زنبورهای چراگر در مقایسه با زنبورهای تازه‌متولدشده از حساسیت بیشتری به این حشره‌کش برخوردار بودند. سمیت تماس با باقی‌مانده و پاششی ایمونیت[®] روی زنبورهای تازه‌متولدشده در مقایسه با سمیت گوارشی آن به طور معنی‌داری بیشتر بود، در حالی که زنبورهای چراگر بیشترین حساسیت را پس از تماس با باقی‌مانده این حشره‌کش نشان دادند. فعالیت آنزیم‌های سم‌زدا نیز با توجه به مرحله رشدی زنبورعسل و روش قرارگیری در معرض ایمونیت[®] تغییر پیدا کرد. به طور کلی، یافته‌های ما بیانگر پتانسیل بالای ایمونیت[®] برای ایجاد مسمومیت در زنبورعسل می‌باشد.

تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۴۰۱/۰۸/۰۹

پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۱۵

دبیر تخصصی: معصومه ضیایی

واژه‌های کلیدی: آلفاسایپرمترین+تفلوبنزورون، نرخ بقا، اثرات زیرکشدگی، آنزیم‌های سم‌زدا، مسمومیت

Citation: Ghasemi, V., Salehinejad, A., Ghadamyari, M. & Sharifi, M. (2022) Impact of Imunit[®] insecticide on survival and detoxification enzymes activity of adult worker honey bee *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae). *J. Entomol. Soc. Iran*, 42 (2), 133-146.

مقدمه

تولیدکننده‌های آفت‌کش‌های کشاورزی همواره تلاش می‌کنند محصولاتی را به بازار عرضه کنند که ضمن کارایی بالای آفت‌کشی، اثرات سوء کمی روی محیط زیست و سلامت انسان به همراه داشته باشند. سازمان حفظ نباتات ایران نیز با هدف حذف یا کاهش مصرف آفت‌کش‌های خطرناک عمومی که طیف وسیعی از آفات و موجودات غیرهدف را از بین می‌برند، سیاست‌هایی را در جهت جایگزین کردن این آفت‌کش‌ها با ترکیبات جدید کم‌خطر اتخاذ نموده است (https://www.ppo.ir).

سمپاشی گیاهان موردپسند زنبورعسل با آفت‌کش‌ها به ویژه حشره‌کش‌ها، یکی از عوامل اصلی کاهش جمعیت کلنی‌های این حشره می‌باشد و زنبورداران هرساله تعداد قابل‌توجهی از کلنی‌های خود را در اثر مسمومیت با آفت‌کش‌های کشاورزی از دست می‌دهند (Johnson et al., 2010; Ricke et al., 2021; Singla et al., 2021).

ایمونیت[®] فرمولاسیونی است که از ترکیب دو حشره‌کش آلفا-سیپرمترین و تفلوبنزورون تشکیل شده است. سیپرمترین متعلق به گروه پیرتروئیدهای مصنوعی است که برای کنترل طیف وسیعی از حشرات آفت محصولات کشاورزی، ضدعفونی حیوانات اهلی و اماکن مسکونی استفاده می‌شود. این حشره‌کش با طولانی‌تر کردن مرحله باز کانال‌های سدیم در آکسون سلول‌های عصبی، باعث ایجاد اختلال در سیستم عصبی حشرات می‌شود. تفلوبنزورون از گروه



تنظیم‌کننده‌های رشد حشرات است که با اثر ابقائی طولانی‌مدت، پوست‌اندازی لارو و شفیره را مختل می‌کند (Hatami *et al.*, 2021). ایمونیت® طیف وسیعی از حشرات آفت با قطعات دهانی زنده-مکنده یا جونده را کنترل می‌نماید و در سال ۱۳۹۴ توسط هیأت نظارت بر سموم ایران برای کنترل کرم میوه‌خوار (*Helicoverpa armigera* L.) در مزارع گوجه‌فرنگی به ثبت رسید (Noorbakhsh, 2022).

پژوهش‌های متعدد نشان داد که فرمولاسیون‌های حاوی سیپرمترین برای زنبورعسل بسیار سمی هستند و حتی دُزهای زیرکشنده آن‌ها باعث ایجاد ناهنجاری‌های رفتاری و تغییرات بیوشیمیایی در زنبورها می‌شود (Decourtye *et al.*, 2005; Thompson, 2003; Bendahou *et al.*, 1999; Delabie *et al.*, 1985). اطلاعات زیادی در مورد خطر سمیت تفلونزورون روی زنبورعسل در دسترس نیست، اما نتایج پژوهش‌ها حاکی از آن است که این ترکیب مراحل نابالغ زنبورعسل به ویژه لاروها را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Tasei, 2001).

زنبورهای چراگر ممکن است به طرق مختلف از قبیل تماس با سطح اندام‌های گیاهان سمپاشی‌شده، جمع‌آوری و تغذیه از شهد، گرده، و آب آلوده به آفت‌کش، برخورد مستقیم با ذرات آفت‌کش در حین سمپاشی، و غیره دچار مسمومیت شوند و در صورت زنده‌ماندن و برگشت به کندو، می‌توانند نوزادان و زنبورهای جوان داخل کندو را نیز تحت تأثیر قرار دهند (Johnson *et al.*, 2010; Mullin *et al.*, 2010; Gill *et al.*, 2012). آفت‌کش‌ها برای ایجاد مسمومیت باید توانایی ورود به بدن حشره و پخش شدن در آن، و در نهایت رسیدن به جایگاه هدف که اغلب سیستم عصبی است، را دارا باشند. هرچه نفوذ آفت‌کش به بدن حشره بیشتر و سریع‌تر باشد، حشره موردنظر سریع‌تر تلف خواهد رفت. به دلیل زیاد بودن نسبت سطح به حجم در بدن حشرات، جلد یکی از مهم‌ترین راه‌های نفوذ آفت‌کش‌ها به جریان همولف آن‌ها می‌باشد (Rakhshani, 2002). میزان نفوذ کوتیکولی در قسمت‌های مختلف بدن حشرات متغیر است. در مورد زنبورعسل، پنجه پاها نقاط بسیار مهمی برای ورود حشره‌کش‌ها محسوب می‌شوند، که این موضوع به وجود گیرنده‌های شیمیایی در این ناحیه از بدن این حشره مرتبط می‌باشد که بلافاصله در زیر یک کوتیکول نازک قرار دارند (Rakhshani, 2002).

زنبورعسل حشره‌ای اجتماعی است و تقسیم کار در کلنی‌های این حشره بر اساس سن زنبورها و نیاز کلنی صورت می‌گیرد. زنبورهای کارگر طی سه هفته اول پس از تولد به انجام کارهای داخل کندو از قبیل نظافت، تغذیه لاروها، حفظ و نگهداری کلنی، شان‌سازی و غیره مشغول هستند. با گذشت این سه هفته، زنبورها فعالیت چراگری خود برای یافتن و جمع‌آوری شهد، گرده، آب و برهموم و انتقال آن‌ها به کندو را آغاز می‌کنند (Winston, 1991). زنبورهای چراگر بیشتر وقت خود را در محیط خارج از کندو به سر می‌برند و بیشتر از زنبورهای جوانی که همیشه در داخل کندو زندگی می‌کنند، با ترکیبات ناگوار موجود در طبیعت در تماس هستند. بر همین اساس حدس می‌زنیم که این زنبورها از آنزیم‌های سم‌زدای فعال‌تری برای تجزیه و دفع مولکول‌های سمی برخوردار باشند. علاوه بر این، گزارش شده است که افزایش ضخامت و اسکلاتیزاسیون کوتیکول حشرات، نفوذ سموم به داخل بدن را کاهش می‌دهد (Matsumura, 1985). بنابراین به نظر می‌رسد که نفوذ آفت‌کش به داخل بدن زنبورهای چراگر، که از جلد ضخیم‌تری در مقایسه با زنبورهای تازه‌متولدشده برخوردار هستند، کندتر و کمتر باشد. تاکنون مطالعه‌ای در مورد تأثیر ایمونیت® روی زنبورعسل صورت نگرفته است، اما وجود سیپرمترین در ترکیب این فرمولاسیون، خطر سمیت آن روی این حشره را هشدار می‌دهد. به همین منظور، در پژوهش حاضر سمیت ایمونیت® با سمیت حشره‌کش دیمتوات که یکی از خطرناک‌ترین ترکیبات موجود برای زنبورعسل می‌باشد، با فرضیه تحمل بیشتر زنبورهای چراگر در مقایسه با زنبورهای جوان مورد مقایسه و ارزیابی قرار گرفت.

در این پژوهش سمیت تماس با باقی‌مانده (Residual contact toxicity)، گوارشی (Oral toxicity)، و پاششی (Spray toxicity) دُز توصیه‌شده مزرعه‌ای حشره‌کش ایمونیت® روی بقای دو مرحله مختلف رشدی زنبورعسل کارگر (زنبورهای تازه‌متولدشده و چراگر) در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. علاوه بر این، تغییر در فعالیت ویژه برخی از آنزیم‌های سم‌زدا شامل آلفا-استراز، بتا-استراز، و گلوکاتینون اس-ترانسفراز پس از تیمار زنبورها با ایمونیت® مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

زنبورعسل. به منظور جمع‌آوری زنبورهای عسل تازه متولدشده، سه قاب شفیره از کلنی‌های مختلف واقع در زنبورستان آموزشی و پژوهشی دانشکده کشاورزی شیروان (طول جغرافیایی: ۵۷ درجه و ۴۵ دقیقه و ۱۴ ثانیه شرقی، عرض جغرافیایی: ۳۷ درجه و ۲۶ دقیقه و ۴ ثانیه شمالی و ارتفاع از سطح دریا: ۱۰۶۷ متر) در فصل تابستان سال ۱۳۹۷ برداشته شد و در یک قفس چوبی با جداره‌های توری (طول: ۵۲، عرض: ۱۸ و ارتفاع: ۲۴ سانتی‌متر) قرار گرفت. قاب‌های شفیرگی در دمای ۳۲±۲ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۶۵±۵ درصد در تاریکی نگهداری شدند. هر ۲۴ ساعت، زنبورهای یک‌روزه (صفر تا ۲۴ ساعته) جدا شدند و برای انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی مورد استفاده قرار گرفتند. برای تهیه زنبورهای چراگر (بیش از ۲۱ روزه)، دریچه پرواز کندوها به مدت ۱۰ دقیقه مسدود شد، به طوری که زنبورهایی که برای جمع‌آوری منابع غذایی به بیرون رفته بودند قادر به ورود به داخل کندو نبودند و روی سکوی پرواز تجمع پیدا کردند. این زنبورها با استفاده از برس زنبورداری به قفس چوبی با جداره‌های توری (طول: ۳۹، عرض: ۲۷ و ارتفاع: ۲۴ سانتی‌متر) ریخته شده و جهت انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی به آزمایشگاه منتقل شدند.

تیمارها. در پژوهش حاضر، آلفا-سیپرمترین+تفلونزورون (با نام تجاری ایمونیت®، ۱۵٪ SC، محصول شرکت ب.آ.اس.اف (BASF) آلمان) به عنوان تیمار اصلی یا حشره‌کش هدف آزمایش شد. براساس روش‌های استاندارد توصیه‌شده برای پژوهش‌های سم‌شناسی روی زنبورعسل (Medrzycki *et al.*, 2013)، از دیمتوات (با نام تجاری رُگسیون®، ۴۰٪ EC، ساخت شرکت هونان هایلی چین) به عنوان تیمار شاهد مثبت یا سم مرجع (Toxic reference) و از آب مقطر به عنوان تیمار شاهد حلال (Solvent control) برای تهیه محلول سمی حشره‌کش‌ها استفاده شد.

تأثیر حشره‌کش‌های ایمونیت® و دیمتوات روی بقای حشرات بالغ زنبورعسل کارگر. سمیت دُز توصیه‌شده مزرعه‌ای ایمونیت® (۰/۷۵ لیتر فرمولاسیون حشره‌کش در ۱۰۰۰ لیتر آب) و دیمتوات (۱ لیتر فرمولاسیون حشره‌کش در ۱۰۰۰ لیتر آب) روی زنبورهای تازه متولدشده و چراگر به روش‌های زیر بررسی شد:

تیمار زنبورها به روش تماس با باقی مانده. یک میلی لیتر از دُز توصیه شده ایمونیت® (۰/۷۵ میلی گرم حشره کش در یک میلی لیتر آب) یا دیمتوات (۱ میلی گرم حشره کش در یک میلی لیتر آب) روی قسمت های مختلف کاغذ صافی واتمن شماره یک به ابعاد 13×11 سانتی متر ریخته شد تا کاملاً مرطوب شود. کاغذ صافی به مدت ۳۰ دقیقه در محیط آزمایشگاه باقی ماند و پس از خشک شدن، در کف ظروف پلاستیکی یک بار مصرف درب دار (طول: ۱۳، عرض: ۱۱ و ارتفاع: ۵ سانتی متر) که سوراخ هایی در جداره آن جهت تهویه مناسب هوا تعبیه شده بود، قرار گرفت. در ظروف شاهد حلال، به جای محلول سمی از یک میلی لیتر آب مقطر استفاده شد. در ظروف شاهد منفی (Negative control) هیچ گونه ترکیبی مورد استفاده قرار نگرفت. سپس، ۲۰ زنبور تازه متولد شده به طور تصادفی به هر ظرف معرفی و درب آن بسته شد. زنبورها در طی آزمایش از طریق میکروتیوب های حاوی یک میلی لیتر شربت شکر ۱:۱ (وزنی/حجمی) که روی درب ظروف پلاستیکی تعبیه شده بود، تغذیه شدند. آزمایش مشابهی برای زنبورهای چراگر طراحی و انجام شد، با این تفاوت که در هر ظرف ۱۰ زنبور چراگر مورد استفاده قرار گرفت (Del Sarto et al., 2014; Ghasemi et al., 2022).

تیمار زنبورها به روش گوارشی. در این آزمایش، ۲۰ زنبور تازه متولد شده به طور تصادفی به هر یک از ظروف پلاستیکی یک بار مصرف معرفی شد. زنبورها قبل از شروع آزمایش به مدت ۲ ساعت گرسنه نگه داشته شدند. سپس، ۲۰۰ میکرو لیتر شربت شکر حاوی دُز توصیه شده ایمونیت® (۰/۱۵ میلی گرم حشره کش در ۲۰۰ میکرو لیتر شربت شکر) یا دیمتوات (۰/۲ میلی گرم حشره کش در ۲۰۰ میکرو لیتر شربت شکر) به مدت ۴ ساعت در اختیار زنبورها قرار گرفت. پس از ۴ ساعت، محلول شربت شکر حاوی حشره کش از ظروف پلاستیکی خارج و مقدار مصرف آن ثبت شد. بلافاصله یک میلی لیتر شربت شکر بدون حشره کش تا انتهای آزمایش در اختیار زنبورها قرار گرفت. زنبورهای شاهد حلال در کل دوره آزمایش فقط شربت شکر دریافت کردند. آزمایش مشابهی برای زنبورهای چراگر طراحی و انجام شد، با این تفاوت که در هر ظرف ۱۰ زنبور چراگر مورد استفاده قرار گرفت (Medrzycki et al., 2013; Del Sarto et al., 2014; Ghasemi et al., 2022).

تیمار زنبورها به روش پاششی. این آزمایش به منظور شبیه سازی سمیت حاصل از برخورد مستقیم ذرات حشره کش با بدن زنبورهای چراگر در محیط انجام شد. ابتدا، زنبورهای تازه متولد شده به مدت ۳ دقیقه در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگه داشته شدند تا نسبتاً بی حرکت شوند. زنبورهای بی حس شده به طور تصادفی و در گروه های ۲۰ تایی در تشتک پتری با قطر دهانه ۹ سانتی متر قرار داده شدند و با کمک یک اسپری دستی کالیبره شده که در فاصله ۲۵ سانتی متری از مرکز تشتک پتری قرار داده شده بود، ۵۰۰ میکرو لیتر از دُز توصیه شده ایمونیت® (۰/۳۷۵ میلی گرم حشره کش در ۵۰۰ میکرو لیتر آب) یا دیمتوات (۰/۵ میلی گرم حشره کش در ۵۰۰ میکرو لیتر آب) روی زنبورها پاشیده شد. زنبورهای تیمار شاهد حلال با ۵۰۰ میکرو لیتر آب مقطر محلول پاشی شدند، و زنبورهای شاهد منفی بدون تیمار بودند. سپس، زنبورهای هر گروه به ظروف پلاستیکی یک بار مصرف منتقل و تا انتهای آزمایش با یک میلی لیتر شربت شکر تغذیه شدند. آزمایش مشابهی برای زنبورهای چراگر طراحی و انجام شد، با این تفاوت که در هر ظرف ۱۰ زنبور چراگر مورد استفاده قرار گرفت (Ghasemi et al., 2022).

هر سه آزمایش بالا در تابستان سال ۱۳۹۷ در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار به ازای هر تیمار طراحی و انجام شد. ظروف حاوی زنبور در طی آزمایش در دمای 22 ± 3 درجه سلسیوس و رطوبت نسبی 65 ± 5 درصد نگهداری در تاریکی نگهداری شدند. تعداد زنبورهای مرده در هر ظرف هر ۲ ساعت یکبار شمارش و ثبت شد و لاشه آن ها از ظرف خارج شد. ملاک تلفات، عدم توانایی زنبورها در تکان دادن اندام های حسی (شاخک ها) و حرکتی (بال ها و پاها) پس از تحریک با قلم موی نازک بود. آزمایش های مربوط به هر روش زیست سنجی، تا زمان تلف شدن تمام زنبورهایی که با حشره کش ها تیمار شدند، به طول انجامید.

تأثیر حشره کش های ایمونیت® و دیمتوات روی فعالیت آنزیم های سم زدای حشرات بالغ زنبور عسل کارگر

آماده سازی نمونه. برای اندازه گیری اثر روش های مختلف اعمال هر یک از ترکیبات مورد آزمایش روی میزان فعالیت ویژه آنزیم های سم زدا، آزمایش دیگری مشابه آزمایش های زیست سنجی در تابستان سال ۱۳۹۷ در قالب طرح کاملاً تصادفی (۴ تیمار $\times$ ۳ روش اعمال تیمار $\times$ ۳ تکرار) برای هر یک از زنبورهای تازه متولد شده و چراگر به طور جداگانه طراحی و انجام شد. بدین منظور، به محض این که ۵۰ درصد زنبورهای تیمار شده با حشره کش ها در هر ظرف تلف شدند، ۳ زنبور زنده از هر یک از این ظرف و ۳ زنبور زنده دیگر نیز از هر یک از ظروف شاهد حلال و شاهد منفی برداشته و در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. سپس، کل بدن هر زنبور در ۲۰۰ میکرو لیتر بافر فسفات (۲۰ میلی مولار با اسیدیت ۷) حاوی ۰/۱ درصد Triton X-100 توسط هموژنایزر دستی همگن سازی شد. محتویات بدن ۳ زنبور مربوط به هر ظرف با یکدیگر مخلوط شد تا یک نمونه واحد به ازای هر ظرف تهیه شود. نمونه ها در شرایط ۱۲۰۰۰ دور بر دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند و پس از جداسازی فاز جامد و مایع نمونه ها، از محلول رویی برای اندازه گیری میزان فعالیت ویژه آنزیم های سم زدا استفاده شد.

اندازه گیری فعالیت ویژه استرازهای عمومی. فعالیت آنزیم های آلفا-استراز و بتا-استراز مطابق روش (Van Asperen, 1962) و به ترتیب با استفاده از سوبستراهای آلفا-نفتیل استات و بتا-نفتیل استات انجام شد. جذب نمونه ها برای سوبسترای آلفا-نفتیل استات در طول موج ۴۵۰ نانومتر و برای سوبسترای بتا-نفتیل استات در ۵۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه میکروپلیت ریدر (Awareness Technology Stat Fax 3200®) ساخت کشور آمریکا خوانده شد.

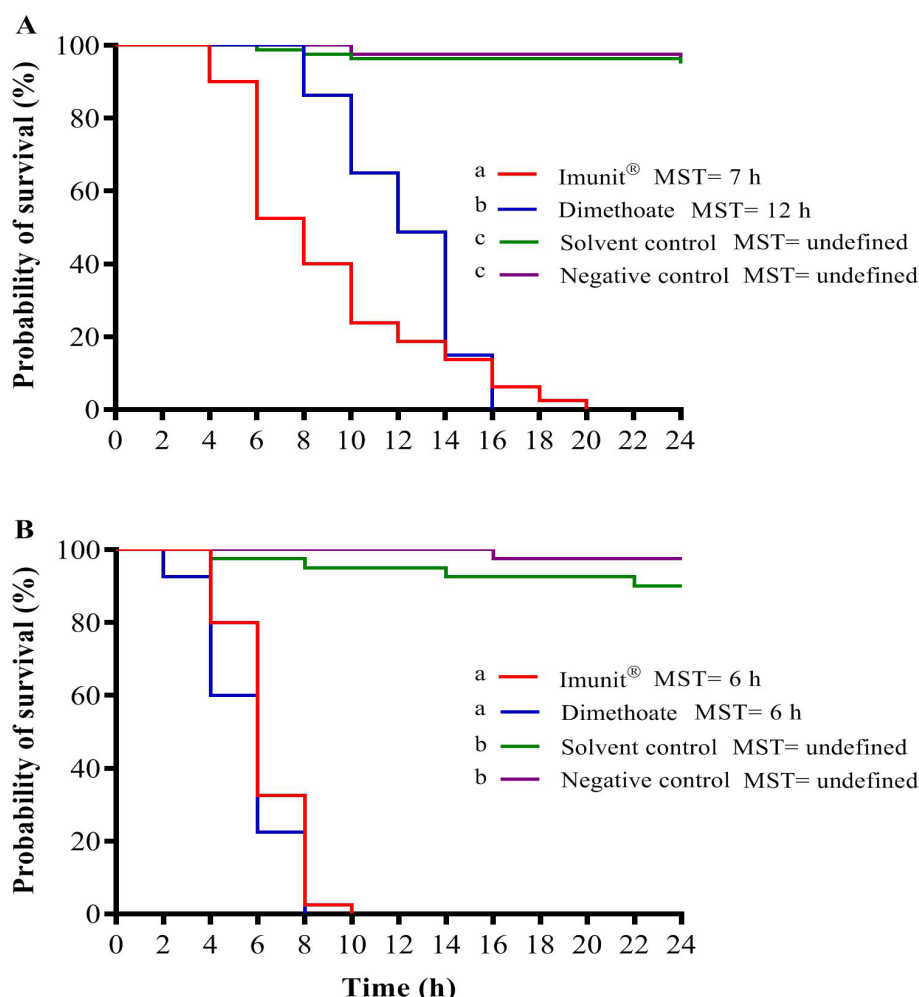
اندازه گیری فعالیت ویژه گلو تاتیون اس-ترانسفراز. فعالیت این آنزیم مطابق روش (Habig et al., 1974) و با استفاده از سوبسترای ۱-کلرو-۲-دی نیتروبنزن اندازه گیری شد. جذب نمونه ها در طول موج ۳۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه میکروپلیت ریدر (Awareness Technology Stat Fax 3200®) خوانده شد.

تجزیه آماری داده ها. تمام داده ها با استفاده از نسخه 8.0.2 نرم افزار GraphPad Prism تجزیه شد. تحلیل بقای زنبورها و برآورد مقادیر زمان بقای میانه (Median Survival Time (MST)) به روش غیر پارامتری Kaplan-Meier انجام شد. منحنی های بقا با استفاده از آزمون Log-rank (Mantel-Cox) با یکدیگر مقایسه شدند. نسبت خطر (Hazard Ratio (RT)) ایمونیت® برای زنبورهای تازه متولد شده در مقایسه با زنبورهای چراگر با آزمون logrank برآورد شد. قبل از

تجزیه واریانس، نرمال بودن باقی‌مانده‌ها با آزمون Kolmogorov-Smirnov بررسی شد. داده‌های حاصل از آزمایش‌های آنزیم‌سنجی به روش تجزیه واریانس یک‌طرفه و اثرات متقابل تیمارها و مراحل مختلف رشدی زنبورعسل (زنبورهای تازه‌متولدشده و زنبورهای چراگر) روی فعالیت ویژه آنزیم‌ها به روش تجزیه واریانس دوطرفه تجزیه شدند. مقایسه زوجی میزان فعالیت ویژه آنزیم‌ها در زنبورهای تازه‌متولدشده با زنبورهای چراگر با آزمون مستقل t-student انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون توکی با سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد. نتایج به صورت میانگین $\pm$ خطای معیار گزارش شد.

نتایج

تأثیر سمیت باقی‌مانده تیمارها روی نرخ بقای زنبورها. نتایج مقایسه منحنی‌های بقای زنبورهای تازه‌متولدشده و چراگر پس از قرارگیری در معرض باقی‌مانده ترکیبات مورد آزمایش در **شکل ۱** نشان داده شده است. روند تغییرات درصد بقا در زنبورهای تازه‌متولدشده‌ای که با ایمونیت® تیمار شدند، اختلاف معنی‌داری با روند تغییرات درصد بقای زنبورهای تیمار شده با سایر ترکیبات داشت ($\chi^2 = 373.5$; $df = 3$; $P < 0.0001$) (**شکل ۱ الف**). زمان بقای میانه زنبورهای تازه‌متولدشده‌ای که در معرض باقی‌مانده ایمونیت® و دیمتوات قرار گرفتند، به ترتیب ۷ و ۱۲ ساعت بود، در حالی که بیش از ۹۵ درصد زنبورهای تیمار شاهد حلال و شاهد منفی تا پایان آزمایش زنده ماندند. میزان بقای زنبورهای چراگری که با ایمونیت® و دیمتوات تیمار شدند، اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشت ($\chi^2 = 3.3$; $df = 1$; $P < 0.0663$) اما از میزان بقای زنبورهای شاهد حلال و شاهد منفی به طور معنی‌داری کمتر بود ($\chi^2 = 165.4$; $df = 2$; $P < 0.0001$) (**شکل ۱ ب**). زمان بقای میانه زنبورهای چراگری که در معرض باقی‌مانده ایمونیت® و دیمتوات قرار گرفتند، ۶ ساعت بود، در حالی که به ترتیب ۹۰ و ۹۷/۵ درصد زنبورهای تیمار شاهد حلال و شاهد منفی تا پایان آزمایش زنده ماندند. خطر سمیت تماس با باقی‌مانده ایمونیت® روی زنبورهای چراگر (۲/۷۸–۱/۶۹) برابر ۱/۸ سمیت این حشره‌کش روی زنبورهای تازه‌متولدشده بود که این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشد.

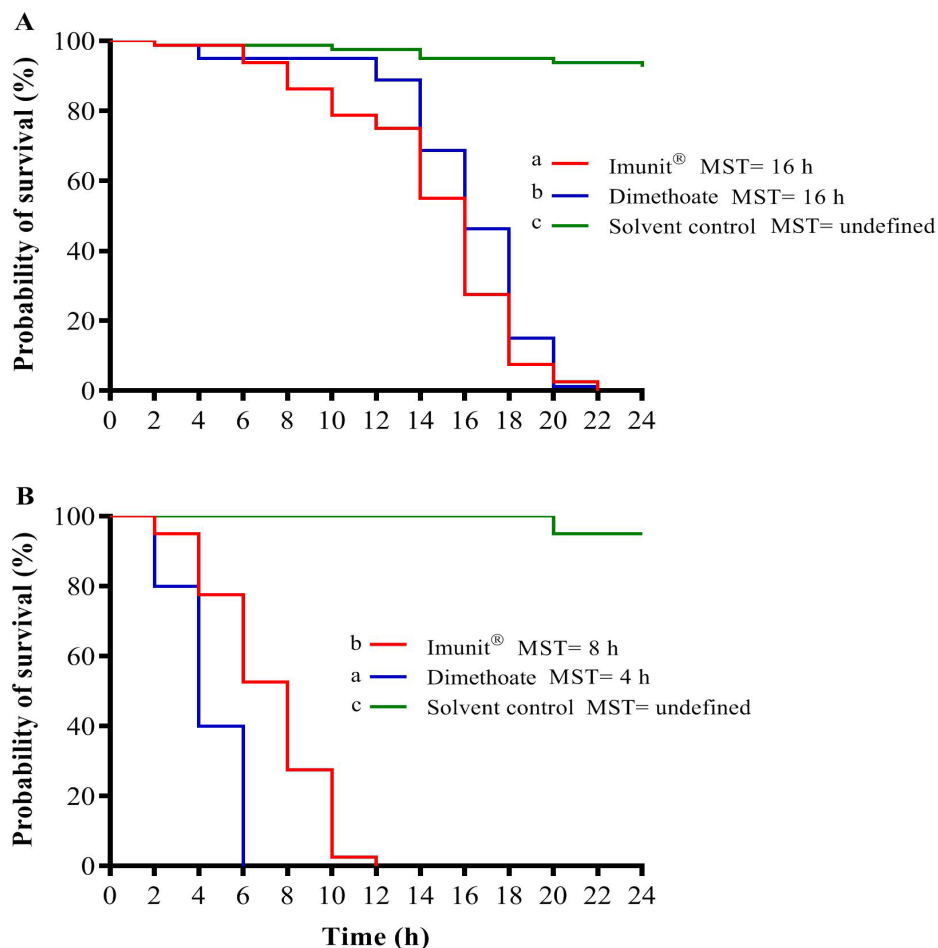


شکل ۱- منحنی‌های بقای Kaplan-Meier و مقادیر برآوردشده زمان بقای میانه برای زنبورهای تازه‌متولدشده (الف) و چراگر (ب) پس از تماس با باقی‌مانده ایمونیت®، دیمتوات، شاهد حلال، و شاهد منفی. منحنی‌های با حروف متفاوت از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری با یکدیگر دارند (آزمون توکی، سطح احتمال ۵ درصد).

Fig. 1. Kaplan-Meier survival curves and the estimated median survival time (MST) for newly emerged (A) and forager (B) bees after contact with the residue of Imunit®, dimethoate, solvent control, and negative control. Curves with different letters are statistically different (Tukey's test, $P < 0.05$).

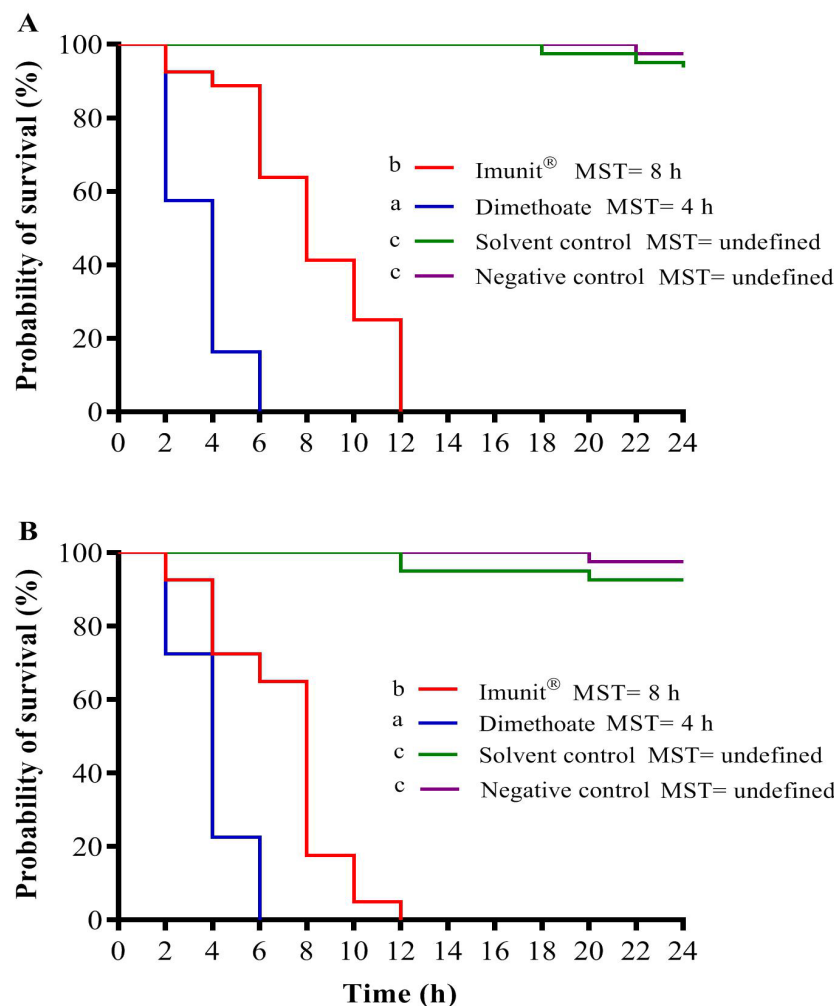
تأثیر سمیت گوارشی تیمارها روی نرخ بقای زنبورها. نتایج مقایسه منحنی‌های بقای زنبورهای تازه متولدشده و چراگر پس از تیمار با ترکیبات مورد آزمایش به روش گوارشی در شکل ۲ نشان داده شده است. روند تغییرات درصد بقا در زنبورهای تازه متولدشده‌ای که با ایمونیت® تیمار شدند، اختلاف معنی‌داری با روند تغییرات درصد بقای زنبورهای تیمارشده با سایر ترکیبات داشت ($\chi^2 = 189.5$; $df = 2$; $P < 0.0001$) (شکل ۲ الف). زمان بقای میانه زنبورهای تازه متولدشده‌ای که با ایمونیت® و دیمتوات قرار گرفتند، ۱۶ ساعت بود، در حالی که به ترتیب ۹۲/۵ و ۹۵ درصد زنبورهای تیمار شاهد حلال و شاهد منفی تا پایان آزمایش زنده ماندند. میزان بقا در زنبورهای چراگری که با ایمونیت® تیمار شدند، اختلاف معنی‌داری با روند تغییرات درصد بقای زنبورهای تیمارشده با سایر ترکیبات داشت (شکل ۲ ب). زمان بقای میانه زنبورهای چراگری که در معرض ایمونیت® و دیمتوات قرار گرفتند، به ترتیب ۴ و ۹۵ درصد زنبورهای تیمار شاهد حلال و شاهد منفی تا پایان آزمایش زنده ماندند. خطر سمیت گوارشی ایمونیت® روی زنبورهای چراگر (۲/۳۱-۷/۳۳) برابر سمیت این حشره‌کش روی زنبورهای تازه متولدشده بود که این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشد.

تأثیر سمیت پاششی تیمارها روی نرخ بقای زنبورها. نتایج مقایسه منحنی‌های بقای زنبورهای تازه متولدشده و چراگر پس از تیمار با ترکیبات مورد آزمایش به روش پاششی در شکل ۳ نشان داده شده است. میزان بقای زنبورهای تازه متولدشده‌ای که با ایمونیت® تیمار شدند، به طور معنی‌داری از میزان بقای زنبورهای تیمارشده با دیمتوات بیشتر ($\chi^2 = 104.2$; $df = 1$; $P < 0.0001$) و از میزان بقای زنبورهای شاهد مثبت و شاهد منفی کمتر بود ($\chi^2 = 311.7$; $df = 2$; $P < 0.0001$) (شکل ۳ الف). زمان بقای میانه زنبورهای تازه متولدشده‌ای که با ایمونیت® و دیمتوات قرار گرفتند، به ترتیب ۴ و ۸ ساعت بود، در حالی که به ترتیب ۹۳/۷۵ و ۹۷/۵ درصد زنبورهای تیمار شاهد حلال و شاهد منفی تا پایان آزمایش زنده ماندند. میزان بقای زنبورهای چراگری که با ایمونیت® تیمار شدند، به طور معنی‌داری از میزان بقای زنبورهای تیمارشده با دیمتوات بیشتر ($\chi^2 = 37.59$; $df = 1$; $P < 0.0001$) و از میزان بقای زنبورهای تیمار شاهد حلال و شاهد منفی کمتر بود (شکل ۳ ب). زمان بقای میانه زنبورهای چراگری که در معرض ایمونیت® و دیمتوات قرار گرفتند، به ترتیب ۴ و ۸ ساعت بود، در حالی که به ترتیب ۹۲/۵۰ و ۹۷/۵ درصد زنبورهای تیمار شاهد حلال و شاهد منفی تا پایان آزمایش زنده ماندند. خطر سمیت پاششی ایمونیت® روی زنبورهای چراگر (۰/۹۵-۲/۱۶) برابر سمیت این حشره‌کش روی زنبورهای تازه متولدشده بود که این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار نمی‌باشد.



شکل ۲- منحنی‌های بقای Kaplan-Meier و مقادیر برآوردشده زمان بقای میانه برای زنبورهای تازه متولدشده (الف) و چراگری (ب) که به روش گوارشی در معرض ایمونیت®، دیمتوات، و شاهد حلال قرار گرفتند. منحنی‌های با حروف متفاوت از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری با یکدیگر دارند (آزمون توکی، سطح احتمال ۵ درصد).

Fig. 2. Kaplan-Meier survival curves and the estimated median survival time (MST) for newly emerged (A) and forager (B) bees orally exposed to Imunit®, dimethoate, and solvent control. Curves with different letters are statistically different (Tukey's test, $P < 0.05$).

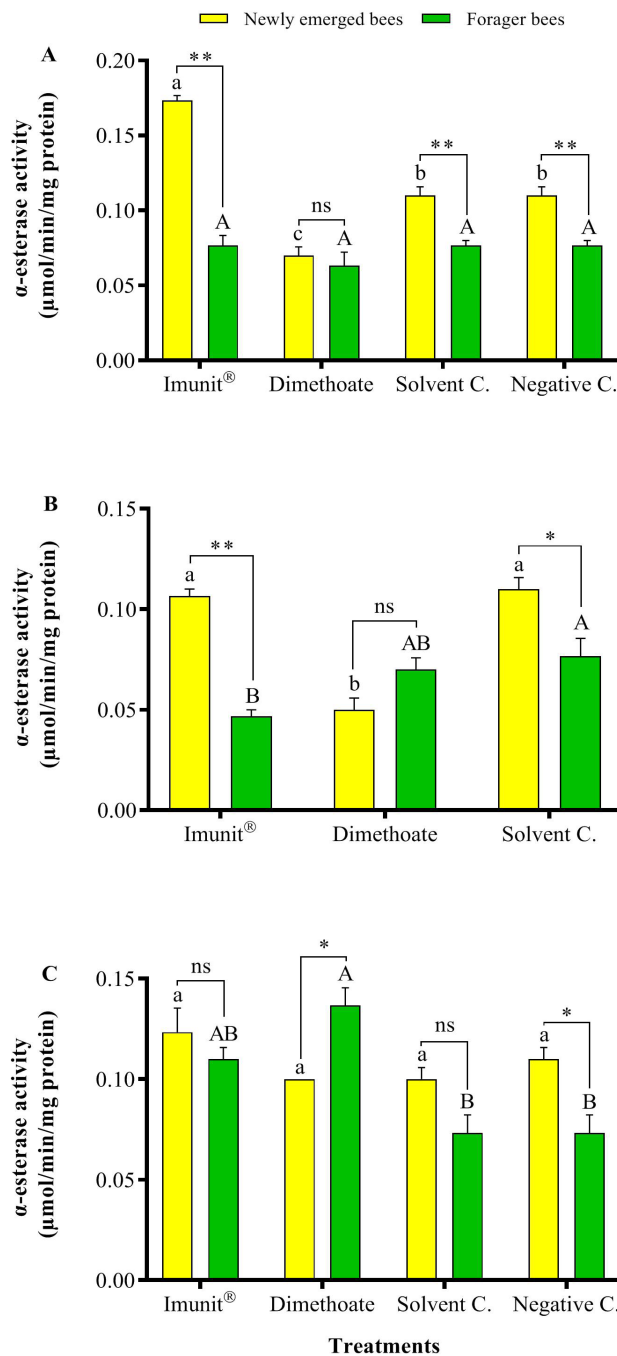


شکل ۳- منحنی‌های بقای Kaplan-Meier و مقادیر برآوردشدهٔ زمان بقای میانه برای زنبورهای تازه‌متولدشده (الف) و چراگر (ب) پس از محلول‌پاشی با ایمونیت®، دیمتوات، شاهد حلال، و شاهد منفی. منحنی‌های با حروف متفاوت از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری با یکدیگر دارند (آزمون توکی، سطح احتمال ۵ درصد).

Fig. 3. Kaplan-Meier survival curves and the estimated median survival time (MST) for newly emerged (A) and forager (B) bees after being sprayed with Imunit®, dimethoate, solvent control, and negative control. Curves with different letters are statistically different (Tukey's test, $P < 0.05$).

مقایسه سمیت روش‌های مختلف کاربرد ایمونیت® روی زنبورها. سمیت تماس با باقی‌مانده و پاششی ایمونیت® در مقایسه با سمیت گوارشی آن روی زنبورهای تازه‌متولدشده به طور معنی‌داری بیشتر بود ($\chi^2 = 84.73$; $df = 2$; $P < 0.0001$). در خصوص زنبورهای چراگر، سمیت تماس با باقی‌مانده ایمونیت® به طور معنی‌داری از سمیت گوارشی و پاششی آن بیشتر بود ($\chi^2 = 7.21$; $df = 2$; $P < 0.0271$).

اثر تیمارها روی فعالیت ویژه آنزیم آلفا-استراز. در روش تماس با باقی‌مانده، اثرات متقابل تیمارها و مراحل مختلف رشدی زنبورعسل روی فعالیت آنزیم آلفا-استراز معنی‌دار بود ($F = 22.88$, $df_{t,e} = 3,16$, $P < 0.0001$). تماس زنبورهای تازه‌متولدشده با باقی‌مانده ایمونیت® به طور معنی‌داری میزان فعالیت این آنزیم را در مقایسه با سایر تیمارها افزایش داد ($F = 65.70$, $df_{t,e} = 3,8$, $P < 0.0001$). میزان فعالیت آنزیم آلفا-استراز در زنبورهای چراگری که با باقی‌مانده ایمونیت® تماس داشتند، اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها نداشت ($F = 1.23$, $df_{t,e} = 3,8$, $P < 0.3603$) (شکل ۴ الف). در روش گوارشی، اثرات متقابل تیمارها و مراحل مختلف رشدی زنبورعسل روی فعالیت آنزیم آلفا-استراز معنی‌دار بود ($F = 24.89$, $df_{t,e} = 2,12$, $P < 0.0001$). تیمار زنبورهای تازه‌متولدشده با ایمونیت® میزان فعالیت این آنزیم را در مقایسه با دیمتوات به طور معنی‌داری افزایش داد اما تفاوت معنی‌داری با زنبورهای تیمار شاهد حلال نداشت ($F = 43.86$, $df_{t,e} = 2,6$, $P < 0.0003$). میزان فعالیت آنزیم آلفا-استراز در زنبورهای چراگری که با ایمونیت® تیمار شدند، به طور معنی‌داری نسبت به زنبورهای تیمار شاهد حلال کاهش یافت ($F = 6.09$, $df_{t,e} = 2,6$, $P < 0.0359$) (شکل ۴ ب). در روش پاششی، اثرات متقابل تیمارها و مراحل مختلف رشدی زنبورعسل روی فعالیت آنزیم آلفا-استراز معنی‌دار بود ($F = 8.86$, $df_{t,e} = 3,16$, $P < 0.0011$). میزان فعالیت آنزیم آلفا-استراز در زنبورهای تازه‌متولدشده‌ای که با ایمونیت® تیمار شدند، اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها نداشت ($F = 2.31$, $df_{t,e} = 3,8$, $P < 0.1523$). میزان فعالیت این آنزیم در زنبورهای چراگری که با ایمونیت® تیمار داشتند، اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها نداشت، اما بین زنبورهای تیمار شده با دیمتوات و زنبورهای تیمار شاهد حلال و شاهد منفی اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($F = 14.28$, $df_{t,e} = 3,8$, $P < 0.0014$) (شکل ۴ ج). مقایسه زوجی بین میزان فعالیت آنزیم آلفا-استراز زنبورهای تازه‌متولدشده و چراگر پس از تماس با باقی‌مانده تیمارها به روش‌های مختلف در شکل ۴ نشان داده شده است.

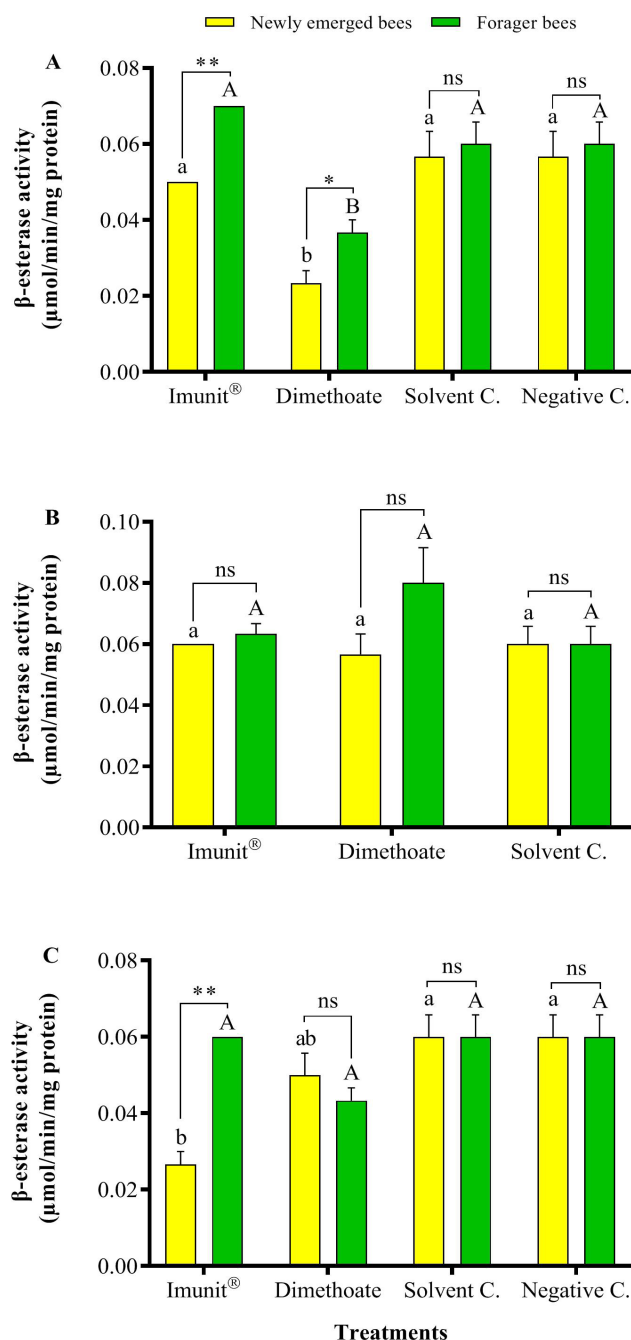


شکل ۴- اثر ایمونیت®، دیمتوات، شاهد
 حلال، و شاهد منفی روی فعالیت ویژه آلفا-استراز (میانگین $\pm$ خطای معیار) زنبورهای تازه متولد شده و چراگر به سه روش (الف) تماسی، (ب) گوارشی، و (ج) پاششی. میانگین‌های با حروف متفاوت (حروف کوچک برای زنبورهای تازه متولد شده و حروف بزرگ برای زنبورهای چراگر) از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری با یکدیگر دارند (آزمون توکی، سطح احتمال ۵ درصد). تفاوت آماری بین میانگین فعالیت آنزیم زنبورهای تازه متولد شده و چراگر برای هر تیمار به صورت ** (اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد)، * (اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد) و ^{ns} (عدم وجود اختلاف معنی دار) نشان داده شده است.

Fig. 4. Effect of Imunit®, dimethoate, solvent control, and negative control applied as residual contact (A), oral (B), and spray (C) on the α -esterase specific activity (mean $\pm$ S.E.) in newly emerged and forager bees. Means followed by different letters (small letters for newly emerged bees and large ones for forager bees) are statistically different (Tukey's test, $P < 0.05$). Statistical difference between the means of the enzyme activity in newly emerged and forager bees for each treatment are denoted as ** ($P < 0.01$) * ($P < 0.05$), and ^{ns} (no significant difference).

اثر تیمارهای روی فعالیت ویژه آنزیم بتا-استراز. در روش تماس با باقی مانده، اثرات متقابل تیمارها و مراحل مختلف رشدی زنبور عسل روی فعالیت آنزیم بتا-استراز معنی دار نبود ($F = 1.50$, $df_{t,e} = 3,16$, $P < 0.2526$). تماس زنبورهای تازه متولد شده با باقی مانده ایمونیت® به طور معنی داری میزان فعالیت این آنزیم را در مقایسه با دیمتوات افزایش داد اما تفاوت معنی داری با زنبورهای تیمار شاهد حلال و شاهد منفی نداشت ($F = 10.07$, $df_{t,e} = 3,8$, $P < 0.0043$). میزان فعالیت آنزیم بتا-استراز در زنبورهای چراگری که با ایمونیت® تیمار شدند، نسبت دیمتوات افزایش یافت، اما اختلاف معنی داری با سایر تیمارها نداشت ($F = 10.29$, $df_{t,e} = 3,8$, $P < 0.0040$) (شکل ۵ الف). در روش گوارشی، اثرات متقابل تیمارها و مراحل مختلف رشدی زنبور عسل روی فعالیت آنزیم بتا-استراز معنی دار نبود ($F = 1.87$, $df_{t,e} = 2,12$, $P < 0.1964$). میزان فعالیت این آنزیم در زنبورهای تازه متولد شده‌ای که با ایمونیت® تیمار شدند تفاوت معنی داری با دیمتوات و زنبورهای تیمار شاهد حلال نداشت ($F = 0.14$, $df_{t,e} = 2,6$, $P < 0.8697$). میزان فعالیت آنزیم بتا-استراز در زنبورهای تازه چراگری که با ایمونیت® تیمار شدند تفاوت معنی داری با سایر تیمارها نداشت ($F = 1.93$, $df_{t,e} = 2,6$, $P < 0.2243$) (شکل ۵ ب). در روش پاششی، اثرات متقابل تیمارها و مراحل مختلف رشدی زنبور عسل روی فعالیت آنزیم بتا-استراز معنی دار بود ($F = 6.90$, $df_{t,e} = 3,16$, $P < 0.0034$). میزان فعالیت آنزیم بتا-استراز در زنبورهای تازه متولد شده‌ای که با ایمونیت® تیمار شدند،

اختلاف معنی‌داری با دیمتوات نداشت، اما از زنبورهای تیمار شاهد حلال و شاهد منفی کمتر بود ($F=8.90$, $df_{t,e}=3,8$, $P<0.0063$). میزان فعالیت آنزیم بتا-استراز در زنبورهای چراگری که با ایمونیت® تیمار شدند، اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها نداشت ($F=3.57$, $df_{t,e}=3,8$, $P<0.0666$) (شکل ۵ ج). مقایسه زوجی بین میزان فعالیت آنزیم بتا-استراز زنبورهای تازه متولدشده و چراگر پس از تیمار با ترکیبات مورد آزمایش به روش‌های مختلف به روش‌های مختلف در شکل ۵ نشان داده شده است.

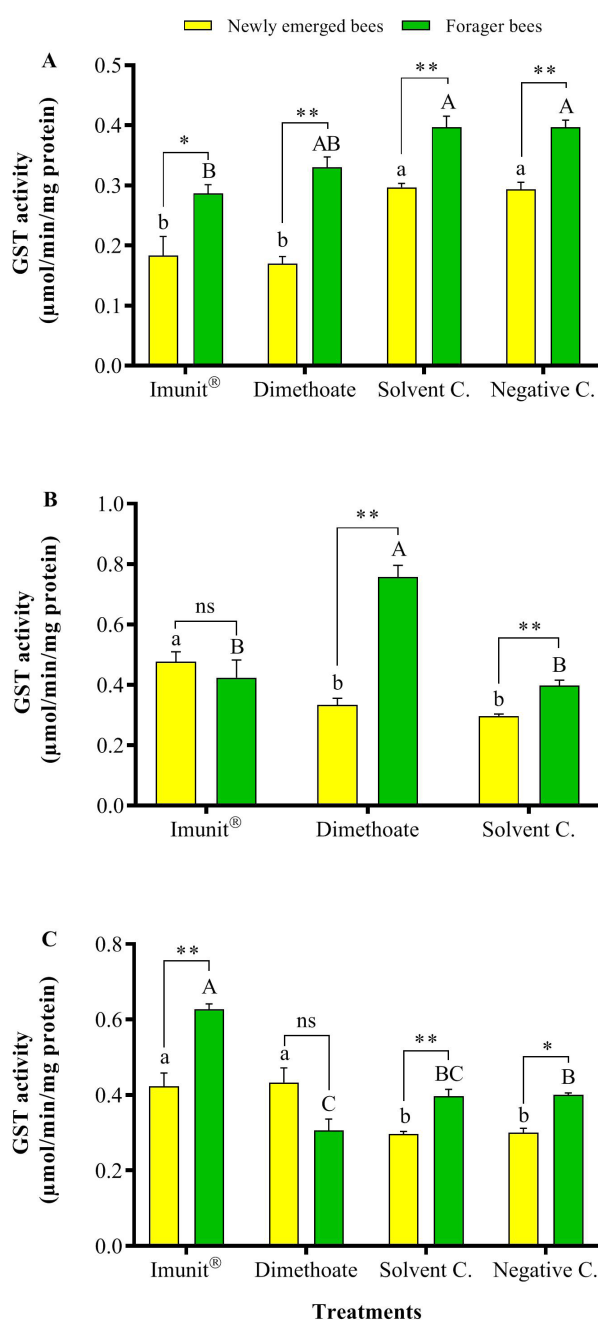


شکل ۵- اثر ایمونیت®، دیمتوات، شاهد حلال، و شاهد منفی روی فعالیت بتا-استراز (میانگین $\pm$ خطای معیار) زنبورهای تازه متولدشده و چراگر به سه روش (الف) تماسی، (ب) گوارشی، و (ج) پاششی. میانگین‌های با حروف متفاوت (حروف کوچک برای زنبورهای تازه متولدشده و حروف بزرگ برای زنبورهای چراگر) از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری با یکدیگر دارند (آزمون توکی، سطح احتمال ۵ درصد). تفاوت آماری بین میانگین فعالیت آنزیم زنبورهای تازه متولدشده و چراگر برای هر تیمار به صورت ** (اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد)، * (اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد) و ^{ns} (عدم وجود اختلاف معنی‌دار) نشان داده شده است.

Fig. 5. Effect of Imunit®, dimethoate, solvent control, and negative control applied as residual contact (A), oral (B), and spray (C) on the β -esterase specific activity (mean $\pm$ S.E.) in newly emerged and forager bees. Means followed by different letters (small letters for newly emerged bees and large ones for forager bees) are statistically different (Tukey's test, $P<0.05$). Statistical difference between the means of the enzyme activity in newly emerged and forager bees for each treatment are denoted as ** ($P<0.01$) * ($P<0.05$), and ^{ns} (no significant difference).

اثر تیمارها روی فعالیت ویژه آنزیم گلوکاتایون اس-ترانسفراز. در روش تماس با باقی‌مانده، اثرات متقابل تیمارها و مراحل مختلف رشدی زنبور عسل روی فعالیت آنزیم گلوکاتایون اس-ترانسفراز معنی‌دار نبود ($F=1.43$, $df_{t,e}=3,16$, $P<0.2696$). میزان فعالیت آنزیم گلوکاتایون اس-ترانسفراز در زنبورهای تازه متولدشده‌ای که با باقی‌مانده ایمونیت® و دیمتوات تیمار شدند اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشت، اما در مقایسه با زنبورهای تیمار شاهد حلال و شاهد منفی کاهش معنی‌داری نشان داد ($F=14.10$, $df_{t,e}=3,8$, $P<0.0015$). میزان فعالیت این آنزیم در زنبورهای چراگری که با ایمونیت® تیمار شدند، اختلاف معنی‌داری با دیمتوات نداشت، اما از زنبورهای تیمار شاهد حلال و شاهد منفی کمتر بود (شکل ۶ الف) ($F=11.66$, $df_{t,e}=3,8$, $P<0.0027$). در روش گوارشی، اثرات متقابل تیمارها و مراحل مختلف رشدی زنبور عسل روی فعالیت

آنزیم گلوتاتیون اس-ترانسفراز معنی‌دار بود ($F=25.50$, $df_{t,e}=2,12$, $P<0.0001$). میزان فعالیت این آنزیم در زنبورهای تازه‌متولدشده‌ای که با ایمونیت® تیمار شدند به طور معنی‌داری در مقایسه با دیمتوات و زنبورهای تیمار شاهد حلال بیشتر بود ($F=16.97$, $df_{t,e}=2,6$, $P<0.0034$). میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون اس-ترانسفراز در زنبورهای چراگری که با ایمونیت® تیمار شدند در مقایسه با دیمتوات کمتر بود اما اختلاف معنی‌داری با زنبورهای تیمار شاهد حلال و شاهد منفی نداشت ($F=22.49$, $df_{t,e}=2,6$, $P<0.0016$) (شکل ۶ ب). در روش پاششی، اثرات متقابل تیمارها و مراحل مختلف رشدی زنبورعسل روی فعالیت آنزیم گلوتاتیون اس-ترانسفراز معنی‌دار بود ($F=17.92$, $df_{t,e}=3,16$, $P<0.0001$). میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون اس-ترانسفراز در زنبورهای تازه‌متولدشده‌ای که با ایمونیت® تیمار شدند، اختلاف معنی‌داری با دیمتوات نداشت، اما از زنبورهای تیمار شاهد حلال و شاهد منفی بیشتر بود ($F=7.88$, $df_{t,e}=3,8$, $P<0.0090$). میزان فعالیت این آنزیم در زنبورهای چراگری که با ایمونیت® تیمار شدند به طور معنی‌داری در مقایسه با سایر تیمارها بیشتر بود ($F=32.40$, $df_{t,e}=3,8$, $P<0.0001$) (شکل ۶ ج). مقایسه زوجی بین میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون اس-ترانسفراز زنبورهای تازه‌متولدشده و چراگر پس از تیمار با ترکیبات مورد آزمایش به روش‌های مختلف به روش‌های مختلف در شکل ۶ نشان داده شده است.



شکل ۶- اثر ایمونیت®، دیمتوات، شاهد حلال، و شاهد منفی روی فعالیت گلوتاتیون اس-ترانسفراز (میانگین±خطای معیار) زنبورهای تازه‌متولدشده و چراگر به سه روش (الف) تماسی، (ب) گواشی، و (ج) پاششی. میانگین‌های با حروف متفاوت (حروف کوچک برای زنبورهای تازه‌متولدشده و حروف بزرگ برای زنبورهای چراگر) از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری با یکدیگر دارند (آزمون توکی، سطح احتمال ۵ درصد). تفاوت آماری بین میانگین فعالیت آنزیم زنبورهای تازه‌متولدشده و چراگر برای هر تیمار به صورت ** (اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد)، * (اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد) و ns (عدم وجود اختلاف معنی‌دار) نشان داده شده است.

Fig. 6. Effect of Imunit®, dimethoate, solvent control, and negative control applied as residual contact (A), oral (B), and spray (C) on the glutathione S-transferase (GST) specific activity (mean±S.E.) in newly emerged and forager bees. Means followed by different letters (large letters for newly emerged bees and small ones for forager bees) are statistically different (Tukey's test, $P<0.05$). Means of the enzyme activity in newly emerged and forager bees were compared pairwise by Student's t - test and their statistically differences are denoted as * ($P<0.05$), ** ($P<0.01$), and ns (no significant difference).

بمط

نتایج آزمایش‌های زیست‌سنجی نشان داد که ایمونیت® از سمیت قابل‌توجهی روی زنبورعسل برخوردار است. این نتایج با فرضیه ما مبنی بر خطر این فرمولاسیون روی زنبورعسل مطابقت داشت و احتمال دارد که این امر به وجود سیپرمترین در ترکیب این فرمولاسیون مرتبط باشد.

درصد بقا در زنبورهای تازه‌متولدشده‌ای که به روش تماس با باقی‌مانده یا پاششی با ایمونیت® تیمارشدند، به طور قابل‌ملاحظه‌ای از روش گوارشی کمتر بود. در زنبورهای چراگر، سمیت تماس با باقی‌مانده ایمونیت® به طور معنی‌داری از سمیت گوارشی و پاششی آن بیشتر بود. این نتایج با فرضیه ما مبنی بر سمیت بیشتر ایمونیت® برای زنبورعسل در روش تماس با باقی‌مانده و پاششی نسبت به روش سمیت گوارشی مطابقت داشت. در روش تماس با باقی‌مانده حشره‌کش، زنبورها، به ویژه زنبورهای چراگر، دائماً روی کاغذ صافی آغشته به ایمونیت® در حال راه رفتن بودند و علاوه بر پنجه پاها، انتهای شکم و شاخک آن‌ها نیز با سطح کاغذ صافی در تماس بود. در روش پاششی نیز کل سطح جلد بدن زنبورها با قطرات ریز محلول سمی ایمونیت® پوشانده شده بود. در هر دو روش مذکور، سطح تماس زیادی بین جلد بدن زنبورها و مولکول‌های سمی ایمونیت® برقرار شد و این امر امکان نفوذ حشره‌کش بیشتری را از طریق کوتیکول به همولف و در نهایت جایگاه‌های هدف این حشره‌کش فراهم آورد. بر خلاف نتایج ما، مطالعات *Del Sarto et al. (2014)* نشان داد که سمیت موضعی و تماسی آبامکتین (گروه آورمکتین‌ها)، دلتامترین (گروه پیرتروئیدها)، و متامیدوفوس (گروه ارگانوفسفره‌ها) روی زنبورعسل چراگر به طور معنی‌داری کمتر از سمیت گوارشی این حشره‌کش‌ها است. بنابراین، میزان حساسیت زنبورعسل به حشره‌کش‌ها به گروه حشره‌کش براساس نحوه عمل در طبقه‌بندی IRAC (Insecticide Resistance Action Committee)، نوع ترکیب شیمیایی، و روش استفاده از آن بستگی دارد.

با افزایش سن و تبدیل زنبورهای جوان به زنبورهای چراگر، فیزیولوژی آن‌ها از جمله فرآیندهای متابولیکی به شدت تغییر پیدا می‌کند (Harrison & Fowell, 2002). اخیراً مطالعاتی در خصوص رابطه بین سن زنبورعسل و میزان حساسیت آن به حشره‌کش‌ها صورت گرفته است. نتایج آزمایش‌های *Rinkevich et al. (2015)* نشان داد که با افزایش سن، حساسیت زنبورعسل به حشره‌کش‌های فنوترین و نالده به ترتیب کاهش و افزایش معنی‌داری پیدا کرد. در پژوهش دیگری، *Zhu et al. (2020)* دریافتند که با افزایش سن زنبورهای کارگر از ۴ روزگی به ۴۲ روزگی، میزان تلفات آن‌ها در برابر پنج حشره‌کش متعلق به گروه‌های مختلف حشره‌کش‌ها به طور معنی‌داری افزایش یافت. برخلاف فرضیه ما مبنی بر تحمل بیشتر زنبورهای چراگر در مقایسه با زنبورهای تازه‌متولدشده به ایمونیت®، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که سمیت تماس با باقی‌مانده و گوارشی این حشره‌کش روی زنبورهای چراگر در مقایسه با زنبورهای تازه‌متولدشده به طور معنی‌داری بیشتر بود و در روش پاششی نیز اختلاف معنی‌داری بین حساسیت این دو گروه زنبور به ایمونیت® مشاهده نشد. نکته‌ای که در حین انجام آزمایش‌ها توجه ما را به خود جلب کرد این بود که زنبورهای چراگر، به محض انتقال به ظروف پلاستیکی، بی‌تابانه و با سرعت زیادی تا پایان آزمایش‌ها در فضای داخل ظرف حرکت می‌کردند تا راهی برای فرار از ظرف پیدا کنند، در حالی که، زنبورهای تازه‌متولدشده به آرامی مشغول فعالیت بودند. در همین ارتباط، *Lattorff (2022)* نشان داد که نگهداری زنبورهای زمستان‌گذران در شرایط قفس‌های آزمایشگاهی، به دلیل عدم حضور ملکه و نبود تعداد کافی جمعیت زنبور، باعث القای تنش و کاهش سطح ترهالوز (قند ذخیره‌کننده انرژی در همولف حشرات) در آن‌ها می‌شود که این امر ممکن است حساسیت زنبورها به سایر عوامل تنش‌زا مانند آفت‌کش‌ها و بیماری‌گرها را افزایش دهد. بر همین اساس، ما نیز حدس می‌زنیم که فعالیت بیش از حد معمول زنبورهای چراگر، به دلیل نگره-داری در شرایط غیرطبیعی آزمایشگاه، موجب اتلاف انرژی و در نتیجه کاهش توانایی آن‌ها برای تحمل تنش حاصل از قرارگیری در معرض ایمونیت® شده باشد. شاید به همین دلیل است که در دستورالعمل‌های ارائه‌شده توسط OECD (Organization for Economic Co-operation and Development)، استفاده از زنبورهای جوان (زنبورهای ۱ الی ۲ روزه) برای انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی پیشنهاد می‌شود. بنابراین، مرحله رشدی زنبورعسل زنبورعسل فاکتور مهمی دیگری است که در آزمایش‌های زیست‌سنجی باید مورد توجه قرار گیرد.

فعالیت ویژه آنزیم‌های سم‌زدا از قبیل سیتوکروم P_{450s}، استرازها، گلوکاتایون اس-ترانسفراز و غیره یکی از شاخص‌های معتبر برای درک تفاوت در میزان حساسیت حشرات نسبت به ترکیبات سمی است (du Rand et al., 2015). از بین روش‌های مورد آزمایش، تنها روش تماس با باقی‌مانده ایمونیت® باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم آلفا-استراز در زنبورهای تازه‌متولدشده نسبت به زنبورهای شاهد شد و تیمار زنبورهای چراگر با ایمونیت® در هر سه روش تماس با باقی-مانده، گوارشی، و پاششی تغییری در میزان فعالیت این آنزیم به وجود نیاورد. میزان فعالیت آنزیم بتا-استراز در زنبورهای تازه‌متولدشده و چراگری که با ایمونیت® تیمار شدند اختلاف معنی‌داری با زنبورهای شاهد نداشت. این نتایج با یافته‌های پژوهش‌های قبلی مبنی بر عدم مشارکت معنی‌دار استرازها در سم‌زدایی حشره-کش‌ها در زنبورعسل مطابقت دارد (Johnson, 2015؛ Zhu et al., 2017؛ Ghasemi et al., 2022). نتایج ما نشان داد که قرارگیری زنبورهای تازه‌متولدشده در معرض ایمونیت® به روش گوارشی و پاششی باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم گلوکاتایون اس-ترانسفراز در مقایسه با زنبورهای شاهد شد. در مورد زنبورهای چراگر نیز استفاده از ایمونیت® به روش پاششی میزان فعالیت این آنزیم را افزایش داد. در همین ارتباط، *Badway et al. (2015)* گزارش کردند که دُزهای پایین حشره‌کش استامی‌پرید (گروه نتونیکتوتینوئیدها) میزان فعالیت گلوکاتایون اس-ترانسفراز زنبورهای چراگر را پس از یک روز به طور معنی‌داری افزایش داد. نتایج مطالعات *Han et al. (2019)* نشان داد که تیمار گوارشی زنبورهای عسل چراگر *Apis cerana cerana* با استامی‌پرید و قارچ‌کش پروپیکونازول (گروه تربازول‌ها) باعث افزایش میزان فعالیت گلوکاتایون اس-ترانسفراز پس از ۲۴ ساعت شد. اخیراً، *Ghasemi et al. (2022)* نشان دادند که قرارگیری زنبورهای تازه‌متولدشده در معرض حشره‌کش پروکلیم‌فیت® (لوفنورون+امامکتین بنزوآت) به روش تماس با باقی‌مانده و پاششی منجر به افزایش فعالیت گلوکاتایون اس-ترانسفراز شد. این پژوهشگران گزارش کردند که تیمار زنبورهای چراگر با پروکلیم‌فیت® به روش تماس با باقی‌مانده و گوارشی میزان فعالیت این آنزیم را افزایش داد. بنابراین، به نظر می‌رسد که در بین آنزیم‌های مورد مطالعه، گلوکاتایون اس-ترانسفراز نقش مهم‌تری در سم‌زدایی ایمونیت® در زنبورعسل ایفا می‌کند. در پژوهش حاضر فرضیه ما این بود که فعالیت آنزیم‌های سم‌زدا در زنبورهای چراگر بیشتر از زنبورهای تازه‌متولدشده است. برخلاف این فرضیه، در هر سه روش تماس با باقی-مانده، گوارشی، و پاششی میزان فعالیت آنزیم آلفا-استراز در زنبورهای چراگر شاهد به طور معنی‌داری از میزان فعالیت این آنزیم در زنبورهای تازه‌متولدشده شاهد

کمتر بود. همان‌طور که قبلاً اشاره شد، زنبورهای تازه‌متولدشده در مقایسه با زنبورهای چراگر از حساسیت کمتری به سمیت تماس با باقی‌مانده و گوارشی ایمونیت® برخوردار بودند و نکته قابل‌توجه این بود که میزان فعالیت آنزیم آلفا-استراز در زنبورهای تازه‌متولدشده‌ای که به این دو روش با ایمونیت® تیمار شدند، به طور قابل‌توجهی از زنبورهای چراگر بیشتر بود. همچنین، حساسیت زنبورهای تازه‌متولدشده و چراگر به ایمونیت® در روش پاششی اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشت که این پدیده با یکسان بودن میزان فعالیت آنزیم آلفا-استراز در این دو گروه زنبور همراه بود. بنابراین، فعالیت بیشتر آنزیم آلفا-استراز در زنبورهای تازه‌متولدشده می‌تواند یکی دیگر از دلایل تحمل بیشتر این زنبورها، در مقایسه با زنبورهای چراگر، در برابر ایمونیت® باشد. در هر سه روش مورد آزمایش، میزان فعالیت آنزیم بتا-استراز در زنبورهای تازه‌متولدشده شاهد اختلاف معنی‌داری با میزان فعالیت این آنزیم در زنبورهای چراگر نداشت، اما تیمار زنبورها با ایمونیت® به روش تماس با باقی‌مانده و پاششی باعث شد که فعالیت بتا-استراز در زنبورهای چراگر بیشتر از فعالیت این آنزیم در زنبورهای تازه‌متولدشده شود. علی‌رغم فعالیت بیشتر این آنزیم بتا-استراز در زنبورهای چراگر، حساسیت آن‌ها نسبت به زنبورهای تازه‌متولدشده در برابر ایمونیت® بیشتر بود. بنابراین، به نظر می‌رسد که فاکتورهای دیگری در میزان حساسیت زنبورهای چراگر در مقایسه با زنبورهای تازه‌متولدشده نسبت به ایمونیت® دخیل باشند. براساس نتایج پژوهش حاضر، میزان فعالیت آنزیم گلوکاتیون اس-ترانسفراز در زنبورهای چراگر شاهد به طور معنی‌داری از زنبورهای تازه‌متولدشده شاهد بیشتر بود و همین اختلاف در زنبورهای چراگری که به روش تماس با باقی‌مانده و پاششی با ایمونیت® تیمار شدند نیز مشاهده شد. در همین راستا، Ghasemi *et al.* (2022) گزارش کردند که فعالیت گلوکاتیون اس-ترانسفراز در زنبورهای چراگری که به روش تماس با باقی‌مانده و گوارشی با پروکلیم‌فیت® و دیمتوات® (گروه ارگانوفسفرها) تیمار شدند، به طور معنی‌داری از زنبورهای تازه‌متولدشده بیشتر بود. بر خلاف نتایج ما، Zhu *et al.* (2020) نشان دادند که با افزایش سن زنبورهای کارگر از ۴ روزگی به ۴۲ روزگی تغییر معنی‌داری در میزان فعالیت گلوکاتیون اس-ترانسفراز رخ نداد. از آزمایش‌های آنزیم‌سنجی دریافتیم که روند تغییر در میزان فعالیت آنزیم‌های سم‌زدا در زنبورهایی که با دیمتوات تیمار شدند در مقایسه با زنبورهای تیمار شده با ایمونیت® متفاوت است. این نتایج بیانگر واکنش متفاوت آنزیم‌های سم‌زدا در مواجهه با ترکیبات شیمیایی مختلف است. به طور کلی، می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که فعالیت آنزیم‌های سم‌زدا در زنبورعسل تابع سه عامل (۱) نوع حشره‌کش، (۲) نحوه قرارگیری زنبورها در معرض حشره‌کش، و (۳) مرحله رشدی زنبورعسل می‌باشد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج پژوهش حاضر پتانسیل ایمونیت® برای ایجاد مسمومیت و تلفات در زنبورعسل را نشان داد. با این وجود، این نتایج را نمی‌توان با قطعیت به شرایط مزرعه تعمیم داد، زیرا اولاً در این پژوهش زنبورها در محیطی خارج از شرایط طبیعی کلنی مورد آزمایش قرار گرفتند و این مسئله ممکن است حساسیت آن‌ها به ایمونیت® را افزایش داده باشد و ثانیاً، زنبورهای تازه‌متولدشده و چراگر با بالاترین دُز ایمونیت® (دُز توصیه‌شده مزرعه‌ای) تیمار شدند، در صورتی که در حالت عادی احتمال مواجهه جمعیت کلنی زنبورعسل، به ویژه زنبورهای تازه‌متولدشده‌ای که صرفاً در داخل کندو زندگی می‌کنند، با این دُز کم است، زیرا تنها تعداد معدودی زنبور چراگر ممکن است در حین سمپاشی گیاهان در معرض مستقیم ذرات سمی حشره‌کش قرار گیرند و اکثر آن‌ها چند ساعت پس از سمپاشی، که احتمالاً بخشی از ترکیبات مؤثره فرمولاسیون به انحای مختلف از دسترس زنبورها خارج شده است، فعالیت خود روی گیاهان را آغاز خواهند کرد. در نهایت، توصیه می‌شود از کاربرد ایمونیت® و سایر آفت‌کش‌های خطرناک برای زنبورعسل در دوره گل‌دهی گیاهان خودداری گردد و در صورت لزوم، عملیات سمپاشی پس از غروب آفتاب و بازگشت زنبورهای چراگر به کندو انجام شود.

REFERENCES

- Badawy, M. E. I., Nasr, H. M. & Rabea, E. I. (2015) Toxicity and biochemical changes in the honey bee *Apis mellifera* exposed to four insecticides under laboratory conditions. *Apidologie* 46, 177-193. <https://doi.org/10.1051/apido/2010018>.
- Bendahou, N., Fleche, C. & Bounias, M. (1999) Biological and biochemical effects of chronic exposure to very low levels of dietary cypermethrin (cymbush) on honeybee colonies (Hymenoptera: Apidae). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 44, 147-153. <https://doi.org/10.1006/eesa.1999.1812>.
- Decourtye, A., Devillers, J., Genecque, E., Le Menach, K., Budzinski, H., Cluzeau, S. & Pham-Delègue, M. H. (2005) Comparative sublethal toxicity of nine pesticides on olfactory learning performances of the honeybee *Apis mellifera*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 48, 242-250. <https://doi.org/10.1007/s00244-003-0262-7>.
- Del Sarto, M. C. L., Oliveira, E. E., Guedes, R. N. C. & Campos, L. A. O. (2014) Differential insecticide susceptibility of the Neotropical stingless bee *Melipona quadrfasciata* and the honey bee *Apis mellifera*. *Apidologie* 45, 626-636. <https://doi.org/10.1007/s13592-014-0281-6>.
- Delabie, J., Bos, C., Fonta, C. & Masson, C. (1985) Toxic and repellent effects of cypermethrin on the honeybee: Laboratory, glasshouse and field experiments. *Pesticide Science* 16, 409-415. <https://doi.org/10.1002/ps.2780160417>.
- du Rand, E. E., Smit, S., Beukes, M., Apostolides, Z., Pirk, C. W. W. & Nicolson, S. W. (2015) Detoxification mechanisms of honey bees (*Apis mellifera*) resulting in tolerance of dietary nicotine. *Scientific Reports* 5, 11779. <https://doi.org/10.1038/srep11779>.
- Fent, K., Schmid, M. & Christen, V. (2020) Global transcriptome analysis reveals relevant effects of environmentally relevant concentrations of cypermethrin in honey bees (*Apis mellifera*), *Environmental Pollution* 259, 113715. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113715>.

- Ghasemi, V., Salehinejad, A., Ghadamyari, M., Jack, C. J. & Sharifi M. (2022) Toxic evaluation of Proclaim Fit® on adult and larval worker honey bees. *Ecotoxicology* 31, 1441-1449. <https://doi.org/10.1007/s10646-022-02601-y>.
- Gill, R., Ramos-Rodriguez, O. & Raine, N. (2012) Combined pesticide exposure severely affects individual- and colony-level traits in bees. *Nature* 491, 105-109. <https://doi.org/10.1038/nature11585>.
- Habig, W. H., Pabst, M. J. & Jakoby, W. B. (1974) Glutathione S- transferase, the first step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry* 249, 7130-7139. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)42083-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)42083-8).
- Han, W., Yang, Y., Gao, J. Zhao, D., Ren, C., Wang, S., Zhao, S. & Zhong, Y. (2019) Chronic toxicity and biochemical response of *Apis cerana cerana* (Hymenoptera: Apidae) exposed to acetamiprid and propiconazole alone or combined. *Ecotoxicology* 28, 399-411. <https://doi.org/10.1007/s10646-019-02030-4>.
- Harrison, J. F. & Fewell, J. H. (2002) Environmental and genetic influences on metabolic rate in the honey bee, *Apis mellifera*. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A, Molecular & Integrative Physiology* 133, 323-33. [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(02\)00163-0](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(02)00163-0).
- Hatami, M., Ziaee, M., Seraj, A. A., Mehrabi-Koushki, M. & Francikowski, J. (2021) Effects of Imunit insecticide on biological characteristics and life table parameters of *Spodoptera ciliata* (Lepidoptera: Noctuidae). *Insects* 12, 1138. <https://doi.org/10.3390/insects12121138>.
- <https://www.pppo.ir>. Deputy for pest control, Iran Plant Protection Organization.
- Human, H., Brodschneider, R., Dietemann, V., Dively, G., Ellis, J. D., Forsgren, E., Fries, I., Hatjina, F., Hu, F. L., Jaffé, R., Jensen, A. B., Köhler, A., Magyar, J. P., Özkýrým, A., Pirk, C. W. W., Rose, R., Strauss, U., Tanner, G., Tarpy, D. R., van der Steen, J. J. M., Vaudo, A., Vejsnæs, F., Wilde, J., Williams, G. R. & Zheng, H. Q. (2013) Miscellaneous standard methods for *Apis mellifera* research. *Journal of Apicultural Research* 52, 1-53. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.52.4.10>.
- Johnson, R. M., Ellis, M. D., Mullin, C. A. & Frazier, M. (2010) Pesticides and honey bee toxicity-USA. *Apidologie* 41, 312-331. <https://doi.org/10.1051/apido/2010018>.
- Johnson, R. M. (2015) Honey bee toxicology. *Annual Review of Entomology* 60, 415-434. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011613-162005>.
- Karise, R., Viik, E., & Mand, M. (2007) Impact of alpha-cypermethrin on honey bees foraging on spring oilseed rape (*Brassica napus*) flowers in field conditions. *Pest Management Science* 63, 1085-1089. <https://doi.org/10.1002/ps.1445>.
- Lattorff, H. M. G. (2022) Increased stress levels in caged honeybee (*Apis mellifera*) (Hymenoptera: Apidae) workers. *Stresses* 2, 373-383. <https://doi.org/10.3390/stresses2040026>.
- Matsumura, F. (1985) Toxicology of insecticides. 2nd ed. 598 pp. Plenum Press, New York and London. <http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4613-2491-1>.
- Medrzycki, P., Giffard, H., Aupinel, P., Belzunces, L. P., Chauzat, M. P., Claben, C., Colin, M. E., Dupont, T., Girolami, V., Johnson, R., Conte, Y. L., Lückmann, J., Marzaro, M., Pistorius, J., Porrini, C., Schur, A., Sgolastra, F., Delso, N. S., van der Steen, J. J. M., Wallner, K., Alaux, C., Biron, D. G., Blot, N., Bogo, G., Brunet, J. L., Delbac, F., Diogon, M., Alaoui, H. E., Provost, B., Tosi, S. & Vidau, C. (2013) Standard methods for toxicology research in *Apis mellifera*. *Journal of Apicultural Research* 52, 1-60. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.52.4.14>.
- Mullin, C., Frazier, M., Frazier, J., Ashcraft, S., Simonds, R., vanEngelsdorp, D. & Pettis, J. S. (2010) High levels of miticides and agrochemicals in North American apiaries: implications for honey bee health. *PLoS ONE* 5, e9754. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009754>.
- Noorbakhsh, S. (2022) List of important pests, diseases, and weeds of major agricultural crops, pesticides and recommended methods for their control. 209 pp. Ministry of Agriculture Jihad and Plant Protection Organization. [In Persian].
- Rakhshani, E. (2002) *Principle of agricultural toxicology (Pesticides)*. 369 pp. Farhange Jame Press. [In Persian].
- Ricke, D. F., Lin, C. H. & Johnson, R. M. (2021) Pollen treated with a combination of agrochemicals commonly applied during almond bloom reduces the emergence rate and longevity of honey bee (Hymenoptera: Apidae) queens. *Journal of Insect Science* 21, 5. <https://doi.org/10.1093/jisesa/icab074>.
- Rinkevich, F. D., Margotta, J. W., Pittman, J. M., Danka, R. G., Tarver, M. R., Ottea, J. A. & Healy, K. B. (2015) Genetics, synergists, and age affect insecticide sensitivity of the honey bee, *Apis mellifera*. *PLoS ONE* 10: e0139841. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0139841>.
- Singla, A., Barmota, H., Sahoo, S. K. & Kang, B. K. (2021) Influence of neonicotinoids on pollinators: A review. *Journal of Apicultural Research* 60, 19-32. <https://doi.org/10.1080/00218839.2020.1825044>.
- Stejskalova, M., Konradova, V. & Kazda, J. (2021) The influence of pesticides repellency used in oilseed rape (*Brassica napus* subsp. *napus*) on the preference by bees (*Apis mellifera* L.). *Journal of Apicultural Research* 60, 270-276. <https://doi.org/10.1080/00218839.2019.1702322>.
- Tasei, J. N. (2001) Effects of insect growth regulators on honey bees and non-*Apis* bees. A review. *Apidologie* 32, 527-545. <https://doi.org/10.1051/apido:2001102>.

- Thompson, H. M. (2003)** Behavioural effects of pesticides in bees-Their potential for use in risk assessment. *Ecotoxicology* 12, 317-330. <https://doi.org/10.1023/A:1022575315413>.
- Van Asperen, E. (1962)** A study of housefly esterase by mean of a sensitive colorimetric method. *Journal of Insect Physiology* 8, 401-416. [https://doi.org/10.1016/0022-1910\(62\)90074-4](https://doi.org/10.1016/0022-1910(62)90074-4).
- Winston, M. L. (1991)** The biology of the honey bee. 294 pp. Cambridge: Harvard University Press.
- Zhu, Y. C., Yao, J., Adamczyk, J. & Luttrell, R. (2017)** Synergistic toxicity and physiological impact of imidacloprid alone and binary mixtures with seven representative pesticides on honey bee (*Apis mellifera*). *PLoS ONE* 12, e0176837. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176837>.
- Zhu, Y. C., Caren, J., Reddy, G. V. P., Li, W., Yao, J. (2020)** Effect of age on insecticide susceptibility and enzymatic activities of three detoxification enzymes and one invertase in honey bee workers (*Apis mellifera*). *Comparative Biochemistry and Physiology. Part C, Toxicology & Pharmacology*, 238, 108844. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2020.108844>.

Impact of Imunit® insecticide on survival and detoxification enzymes activity of adult worker honey bee *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae)

Vahid Ghasemi¹, Ali Salehinejad², Mohammad Ghadamyari³, & Mahboobeh Sharifi⁴

1. Division of Honey Bee, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tebran, Karaj, Iran.

✉ vghasemi@ut.ac.ir

 <https://orcid.org/0000-0002-0616-1791>

2. Department of Plant Protection, Baharan Institute of Higher Education, Gorgan, Iran.

✉ alisalehi6356@gmail.com

3. Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.

✉ ghadamyari@guilan.ac.ir

 <https://orcid.org/0000-0001-7258-6838>

4. Plant Protection Research Department, Golestan Agricultural and Natural Resources Research Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Gorgan, Iran

✉ m.sharifi@areeo.ac.ir

 <https://orcid.org/0000-0002-6417-0119>

Article History

Received: 31 October 2022 | Accepted: 6 December 2022 | Subject Editor: Masoumeh Ziaee

Abstract

Alpha-cypermethrin+Teflubenzuron (Imunit®) is an insecticide that is recommended by Iran Plant Protection Organization (IPPO) for the control of the cotton bollworm (*Helicoverpa armigera* Hübner) in tomato fields. In this research, the effect of Imunit® was assessed on survival of adult worker honey bees (*Apis mellifera* L.) in laboratory conditions. Newly emerged (≤ 24 -h old) and forager (> 21 -day old) bees were treated with the field recommended dose of this insecticide via three types of exposure (residual contact, oral, or spray). In addition, the sublethal effects of Imunit® on the specific activity of some detoxifying enzymes including α -esterase, β -esterase, and Glutathione S-transferase (GST) was studied. The toxicological tests illustrated that the toxicity of Imunit® varies with the developmental stage of the bees (newly emerged and forager bees) and the type of exposure. Except for the spray method, forager bees were more susceptible than newly emerged ones to this insecticide. Imunit® was significantly more toxic to newly emerged bees when applied as residual contact and spray than orally, whereas foragers showed more sensitivity after contact exposure to the residues of this insecticide. Activity of the detoxifying enzymes also changed regarding the developmental stage of the bees and the means of exposure to Imunit®. In general, our findings demonstrate the high potential of Imunit® in the intoxication of honey bees.

Key words. Alpha-cypermethrin+Teflubenzuron, Survival rate, Sublethal effects, Detoxifying enzymes, Intoxication

Corresponding Author: Vahid Ghasemi (Email: vghasemi@ut.ac.ir)

Citation: Ghasemi, V., Salehinejad, A., Ghadamyari, M. & Sharifi, M. (2022) Impact of Imunit® insecticide on survival and detoxification enzymes activity of adult worker honey bee *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae). *J. Entomol. Soc. Iran*, 42 (2), 133-146. <https://doi.org/10.52547/jesi.42.2.2>