



دانشکده‌ی کشاورزی و منابع طبیعی

گروه آموزشی گیاهپزشکی

پایان‌نامه برای دریافت درجه‌ی کارشناسی ارشد

در رشته‌ی حشره‌شناسی کشاورزی

عنوان:

تأثیر بعضی از هیبریدهای ذرت روی شاخص‌های تغذیه‌ای و فیزیولوژی گوارشی

***Tribolium castaneum* (Herbest) (Coleoptera: شپشه‌ی قرمز آرد**

Tenebrionidae)

استاتید راهنما:

دکتر قدیر نوری قنبلانی

دکتر بهرام ناصری

استاد مشاور:

دکتر علی اصغر فتحی

پژوهشگر:

فرزاد عباس‌زاده

زمستان - 1396

نام خانوادگی دانشجو: عباسزاده	نام: فرزاد
عنوان پایان نامه: تأثیر بعضی از هیبریدهای ذرت روی شاخص‌های تغذیه‌ای و فیزیولوژی گوارشی شپشه‌ی قرمز آرد <i>Tribolium castaneum</i> (Herbest) (Coleoptera: Tenebrionidae)	
اساتید راهنما: دکتر قدیر نوری‌قنبلانی و دکتر بهرام ناصری استاد مشاور: دکتر سید علی اصغر فتحی	
مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد	رشته: حشره‌شناسی کشاورزی
دانشگاه: محقق اردبیلی	دانشکده: کشاورزی و منابع طبیعی
تاریخ دفاع: 1396/11/11	تعداد صفحات: 51
چکیده:	
<p>شپشه قرمز آرد، <i>Tribolium castaneum</i> (Herbest)، آفتی پلی‌فاژ است که به تعداد زیادی از محصولات انباری حمله می‌کند. در این آزمایش تأثیر نه هیبرید ذرت شامل Simax، SC704، BC678، AS71، SC703، PL472، AR89، KSC703 و AS77 روی شاخص‌های تغذیه‌ای و فعالیت آنزیم‌های گوارشی <i>T. castaneum</i> در دمای 2 ± 30 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 65 ± 5 درصد و شرایط تاریکی کامل مطالعه شد. مطابق با نتایج به دست آمده از این مطالعه، کمترین غذای خورده شده توسط لاروهای سن چهارم <i>T. castaneum</i> در هیبرید Simax، کمترین افزایش وزن لاروی در هیبرید AS77، کمترین بازدهی تبدیل غذای خورده شده در هیبرید AS77، کمترین نرخ مصرف نسبی در هیبرید Simax و کمترین نرخ رشد نسبی در هیبرید AS77 مشاهده شد. همچنین بیشترین مقدار غذای خورده شده، افزایش وزن لاروی، نرخ مصرف نسبی و نرخ رشد نسبی توسط لاروهای سن چهارم در هیبرید AS71 و بیشترین بازدهی تبدیل غذای خورده شده توسط حشرات کامل نیز در هیبرید Simax، به دست آمد. کمترین وزن غذای خورده شده توسط حشرات کامل شپشه قرمز آرد در هیبرید SC703، کمترین افزایش وزن حشره کامل در هیبرید AS77، کمترین بازدهی تبدیل غذای خورده شده در هیبرید KSC703 و کمترین نرخ رشد نسبی در هیبرید Simax مشاهده شد. همچنین بیشترین وزن غذای خورده شده توسط حشرات کامل در هیبرید SC703، بیشترین افزایش وزن حشره کامل در هیبرید Simax، بیشترین بازدهی تبدیل غذای خورده شده در هیبرید AS77، بیشترین نرخ مصرف نسبی در هیبرید SC703 و بیشترین نرخ رشد نسبی در هیبرید AS71 به دست آمد. کمترین فعالیت پروتئولیتیک لاروهای سن چهارم در هیبرید AR89 ($1/6306 \pm 0/0077$ U/mg) و بیشترین مقدار آن در هیبرید AS71 ($2/8442 \pm 0/013$ U/mg) بود. کمترین میزان فعالیت پروتئولیتیک حشرات کامل روی هیبرید PL472 ($3/1836 \pm 0/0076$ U/mg) و بیشترین مقدار آن مربوط به حشراتی بود که از هیبرید AS77 ($5/0226 \pm 0/0347$ U/mg) تغذیه کرده بودند. کمترین میزان فعالیت آمیلولیتیک لاروهای سن چهارم در هیبرید BC678 ($0/00005$ mU/mg) \pm 0/0092 و بیشترین مقدار آن در هیبرید AR89 ($0/01775 \pm 0/00012$ mU/mg) مشاهده شد. همچنین کمترین میزان فعالیت آمیلولیتیک حشرات کامل روی هیبریدهای KSC703 ($0/1013 \pm 0/00004$ mU/mg) و SC703 ($0/1013 \pm 0/00004$ mU/mg) و بیشترین مقدار آن در هیبرید SC704 ($0/1027 \pm 0/00006$ mU/mg) و بیشترین مقدار آن در هیبرید SC704 ($0/1315 \pm 0/00013$ mU/mg) به دست آمد.</p> <p>بر اساس نتایج به دست آمده، هیبرید PL472، AS77 برای رشد جمعیت لاروهای سن چهارم و هیبریدهای BC678 و SC704 برای حشرات کامل شپشه قرمز آرد هیبریدهای نامناسب می‌باشند و می‌توانند در مناطقی که این آفت خسارت قابل توجهی در انبار به دانه‌ها وارد می‌سازد جهت کاهش آلودگی ذرت به این آفت کشت گردند.</p> <p>کلید واژه‌ها: <i>Tribolium castaneum</i>، زیست‌شناسی، فیزیولوژی گوارشی، هیبریدهای ذرت.</p>	

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
1	فصل اول:
1	مقدمه و مروری بر تحقیقات گذشته
2	1-1- مقدمه
6	1-2- مروری بر تحقیقات گذشته
6	1-2-1- شیشه قرمز آرد <i>T. castaneum</i>
6	1-2-2- جایگاه شیشه قرمز آرد در رده بندی حشرات
6	1-2-3- مناطق انتشار شیشه قرمز آرد
6	1-2-4- اهمیت اقتصادی و دامنه میزبانی شیشه قرمز آرد
7	1-3- استفاده از ارقام مقاوم
8	1-4- شاخص های تغذیه ای
9	1-5- آنزیم های گوارشی در حشرات
10	1-6- اسیدپتیدی دستگاه گوارش در حشرات
10	1-7- آنزیم گوارشی آمیلاز
11	1-8- آنزیم های گوارشی پروتئاز
12	1-8-1- اندوپروتئینازها
12	1-8-2- اگزوپروتئینازها
13	1-9- مروری بر تحقیقات انجام شده روی شاخص های تغذیه ای و فعالیت آنزیمی
16	فصل دوم:
16	مواد و روش ها

- 17 1-2- تهیه هیبریدهای مختلف ذرت
- 17 2-2- پرورش آزمایشگاهی شیشه قرمز آرد
- 18 3-2- اندازه گیری شاخص های تغذیه ای شیشه قرمز آرد
- 19 4-2- اندازه گیری تأثیر هیبریدهای مختلف ذرت بر آنزیم های گوارشی
- 19 1-4-2- تهیه ی بافر
- 19 2-4-2- تهیه عصاره آنزیمی از روده میانی
- 20 3-4-2- بررسی فعالیت پروتئولیتیک گوارشی لاروهای سن چهارم و حشرات کامل شیشه ی قرمز آرد روی هیبریدهای مختلف ذرت
- 20 4-4-2- تعیین فعالیت آمیلولیتیک گوارشی لاروهای سن چهارم و حشرات کامل شیشه ی قرمز آرد روی هیبریدهای مختلف ذرت
- 21 5-4-2- سنجش غلظت پروتئین موجود در بذور هیبریدهای مختلف ذرت
- 21 6-4-2- سنجش غلظت نشاسته ی موجود در بذور هیبریدهای مختلف ذرت
- 21 5-2- تجزیه ی داده ها

فصل سوم: Error! Bookmark not defined.

نتایج Error! Bookmark not defined.

1-3- شاخص های تغذیه ای لاروهای سن چهارم و حشرات کامل شیشه قرمز آرد روی هیبریدهای مختلف ذرت. Error! Bookmark not defined.

2-3- فعالیت ویژه ی پروتئازی لاروهای سن چهارم و حشرات کامل شیشه قرمز آرد در واکنش به تغذیه از هیبریدهای

مختلف ذرت. Error! Bookmark not defined.

3-3- فعالیت ویژه ی آمیلازی لاروهای سن چهارم و حشرات کامل شیشه قرمز آرد در واکنش به تغذیه از هیبریدهای

مختلف ذرت. Error! Bookmark not defined.

4-3- غلظت پروتئین و نشاسته موجود در آرد هیبریدهای مختلف ذرت. Error! Bookmark not defined.

5-3- نتایج کلاستر مجموع شاخص های تغذیه ای و آنزیم های گوارشی لارو سن چهارم شیشه قرمز آرد. Error! Bookmark not defined.

Error! Bookmark not defined..... فصل چهارم:

Error! Bookmark not defined..... بحث و نتیجه گیری

Error! Bookmark not defined. 1-4 بحث

Error! Bookmark not defined. 2-4 نتیجه گیری نهایی

Error! Bookmark not defined. 3-4 پیشنهادها

Error! Bookmark not defined..... فهرست منابع

Error! Bookmark not defined. فهرست منابع و مآخذ:

فهرست اشکال

صفحه	عنوان
17	شکل 2-1- ظروف مختلف مورد استفاده در پرورش گروهی (الف) و انفرادی (ب) لارو و حشره کامل شپشه قرمز آرد (اصل).....
	شکل 3-2- فعالیت ویژه پروتئولیتیک عصاره‌ی روده‌ی میانی لاروهای سن چهارم و حشرات کامل شپشه قرمز آرد روی هیبریدهای مختلف ذرت. Error! Bookmark not defined
	شکل 3-3- فعالیت ویژه آمیلولیتیک عصاره‌ی روده‌ی میانی لاروهای سن چهارم و حشرات کامل شپشه قرمز آرد روی هیبریدهای مختلف ذرت. Error! Bookmark not defined
	شکل 3-4- دندوگرام حاصل از تجزیه کلاستر ارقام مختلف ذرت بر مبنای شاخص‌های تغذیه‌ای و آنزیم‌های گوارشی لاروهای سن چهارم شپشه قرمز آرد. Error! Bookmark not defined
	شکل 3-5- دندوگرام حاصل از تجزیه کلاستر ارقام مختلف ذرت بر مبنای شاخص‌های تغذیه‌ای و آنزیم‌های گوارشی حشرات کامل شپشه قرمز آرد. Error! Bookmark not defined

فهرست جداول

صفحه

عنوان

جدول 3-1- میانگین (\pm خطای معیار) شاخصهای تغذیه‌ای لاروهای سن چهارم شپشه قرمز آرد روی هیبریدهای

مختلف ذرت..... **Error! Bookmark not defined.**

جدول 3-2- هیبریدهای ذرت نشان‌دهنده کمترین و بیشترین شاخص‌های تغذیه‌ای برای لاروهای سن چهارم شپشه‌ی

قرمز آرد..... **Error! Bookmark not defined.**

جدول 3-3- میانگین (\pm خطای معیار) شاخصهای تغذیه‌ای حشرات کامل شپشه قرمز آرد روی هیبریدهای مختلف

ذرت..... **Error! Bookmark not defined.**

جدول 3-4- هیبریدهای ذرت نشان‌دهنده کمترین و بیشترین شاخص‌های تغذیه‌ای برای حشرات کامل شپشه‌ی قرمز

آرد..... **Error! Bookmark not defined.**

جدول 3-5- هیبریدهای ذرت نشان‌دهنده کمترین و بیشترین فعالیت پروتئولیتیک عصاره روده‌ی میانی لاروهای سن

چهارم و حشرات کامل شپشه قرمز آرد..... **Error! Bookmark not defined.**

جدول 3-6- هیبریدهای ذرت نشان‌دهنده کمترین و بیشترین فعالیت آمیلولیتیک عصاره‌ی روده میانی لاروهای سن

چهارم و حشرات کامل شپشه قرمز آرد..... **Error! Bookmark not defined.**

جدول 3-7- میانگین (\pm خطای معیار) میزان پروتئین و نشاسته هیبریدهای مختلف ذرت. **Error! Bookmark not defined.**

فصل اول:

مقدمه و مروری بر تحقیقات گذشته

1-1- مقدمه

ذرت، *Zea mays* L. گیاهی تک لپه‌ای و یک ساله از تیره‌ی گندمیان¹ است (تاج بخش، 1375). براساس مدارک و اسناد موجود، مکزیک خاستگاه اولیه‌ی ذرت می‌باشد (میرهادی، 1380). این گیاه به دلیل موارد مصرف زیاد، کیفیت و ارزش غذایی بالا و قدرت سازگاری با اقلیم‌های مختلف (به ویژه با تولید هیبریدهای جدید) در اکثر نقاط جهان کشت می‌شود. در سال‌های اخیر ذرت از نظر سطح زیر کشت بعد از گندم و برنج در مقام سوم بوده، ولی از لحاظ میزان تولید جهانی مقام اول را بدست آورد (فائو²، 2015). ذرت گیاهی روز کوتاه است و در ایران در نواحی گرم جنوب، جنوب غربی، مرکزی، دشت مغان و استان‌های گلستان و مازندران کشت می‌شود (کینیری و همکاران³، 1983؛ میرهادی، 1367). ذرت به دلیل آن که دارای مواد قندی و نشاسته‌ای زیادی بوده و از طرفی نیز مقدار محصول آن در واحد سطح نسبتاً زیاد می‌باشد، یکی از مهمترین و مناسب‌ترین نباتات علوفه‌ای جهت تهیه علوفه سبز و یا علوفه سیلو محسوب می‌شود. چون این گیاه از نظر پروتئین و کربوهیدرات برای دام‌ها بسیار غنی می‌باشد، حدود 80 تا 85 درصد تولید ذرت هر کشور برای تهیه‌ی ذرت سیلویی یا علوفه سبز تازه برای تغذیه‌ی دام اختصاص داده می‌شود. انواعی از ذرت که دارای دانه‌های سفید رنگ می‌باشند برای پرندگان و حیواناتی که به منظور تهیه‌ی گوشت سفید پرورش می‌یابند، به مصرف می‌رسد. کنجاله و آرد ذرت نیز در دامداری‌ها به مقدار زیاد مصرف می‌شود. همچنین ذرت مصارف صنعتی نیز داشته و در صنایع مختلف از آن استفاده‌های گوناگونی به عمل می‌آید. به عنوان مثال، از ساقه ذرت در صنایع کاغذسازی، مقواسازی و تهیه‌ی کاغذ دیواری استفاده می‌شود. از آرد و نیز جوانه ذرت به دلیل دارا بودن مقدار زیادی از

¹ - Graminae

² - FAO (Food And Agriculture Organization Of The United Nations

³ - Kiniry et al

ویتامین‌های مختلف به خصوص ویتامین E در صنایع غذایی استفاده می‌شود. همچنین از کنجاله و آرد ذرت در صنایع تهیه‌ی گلوتن خوراکی، صنایع پلاستیک‌سازی و تهیه‌ی ورنی، چوب و چسب استفاده می‌شود. همچنین از نشاسته ذرت در صنایع صابون‌سازی، تهیه نشاسته، داروسازی، تهیه غذای کودکان، تولید کاغذهای روغنی و رنگرزی استفاده می‌شود (خدابنده، 1382).

آفات مختلفی در ایران و جهان به دانه‌های ذرت در انبار خسارت می‌زنند که یکی از آن‌ها، شپشه‌ی قرمز آرد، (*Tribolium castaneum* (Herbest)) می‌باشد. حشرات بالغ و لاروهای این آفت از آرد، دانه‌های غلات، میوه‌های خشک، سبوس، چرم و پوست تغذیه می‌کنند (اتوال⁴، 1976؛ ختاک و همکاران⁵، 1999). در صورت آلودگی شدید، آرد زرد و کپک زده شده و بوی نامطبوع و تندی پیدا می‌کند و برای مصرف انسان نامناسب می‌شود (اتوال، 1976). کنترل حشرات آفت توسط حشره‌کش‌ها متداول‌ترین روش در کنترل خسارت آفات می‌باشد. اگرچه مواد شیمیایی مصنوعی برای انسان و محیط زیست خطرناک هستند، ولی به دلیل اثر سریع این ترکیبات شیمیایی، کشاورزان این روش را به طور معمول برای کنترل آفات ترجیح می‌دهند. با این حال، استفاده بیش از حد از حشره‌کش‌ها به دلیل طیف اثر وسیع آن‌ها مشکلات زیست محیطی فراوانی ایجاد می‌کند، همچنین، باقی‌مانده‌ی مواد شیمیایی مصنوعی در تولیدات کشاورزی برای سلامتی انسان و حیوانات خطرناک است (شفیق و همکاران، 2006). بنابراین، با توجه به مشکلات ناشی از حضور و تغذیه شپشه قرمز آرد از ذرت در انبار و همچنین محدودیت‌های کاربرد آفت‌کش‌های شیمیایی، استفاده از روش‌های جایگزین ضروری به نظر می‌رسد. یکی از روش‌های سازگار با محیط‌زیست استفاده از ارقام مقاوم به آفت می‌باشد. لذا در این تحقیق تعدادی از هیبریدهای ذرت از نظر تأثیری که بر شاخص‌های تغذیه‌ای و فیزیولوژی گوارشی این آفت دارند مورد بررسی قرار گرفت تا در صورت مشاهده‌ی تفاوت، از ارقام مقاوم در کنترل تلفیقی آفت استفاده شود. مقاومت گیاه میزبان ابزار مهمی است که از لحاظ اقتصادی و سلامت محیط زیست نتایج بسیار مطلوبی را به دنبال

⁴ - Atwal

⁵ - Khattak et al

داشته است (کندی و همکاران^۶، 1987). ارقام مقاوم مصرف آفت‌کش‌ها را کاهش داده، سلامت و ایمنی مصرف‌کنندگان را بهبود بخشیده و آلودگی محیط زیست و اثرات زیان‌بار روی عوامل بیوکنترل را به حداقل می‌رساند (تواناپور و همکاران، 1388). یکی از عوامل ایجاد کننده‌ی مقاومت در برابر آفات وجود ترکیبات شیمیایی گیاهی و مهارکننده‌ی آنزیم‌های گوارشی می‌باشد (لویس و همکاران^۷، 1997).

میزان نشو و نمای حشرات با کیفیت غذای خورده شده رابطه‌ی مستقیم دارد (والدباور^۸، 1968). میزان نمو، بقا و تولید مثل یک حشره تحت تأثیر گیاهان میزبان قرار می‌گیرد (کیم و لی^۹، 2002؛ لیو و همکاران^{۱۰}، 2004). یکی از روش‌های ارزیابی مقاومت گیاهان میزبان، مطالعه‌ی شاخص‌های تغذیه‌ای حشره روی ارقام مختلف با تعیین میزان رشد حشره، میزان غذای خورده شده و تأثیر آن روی افزایش نشو و نمای حشره می‌باشد (نوری قنبلانی و همکاران، 1392؛ هاینس و میلار^{۱۱}، 1998). میزان مصرف غذا توسط یک حشره گیاهخوار با کیفیت گیاه میزبان و میزان بازدهی تغذیه‌ای آن حشره بستگی دارد. شاخص‌های تغذیه‌ای به ویژه شاخص بازدهی تبدیل غذای خورده شده (*ECT*) و بازدهی تبدیل غذای هضم شده (*ECD*) از جمله شاخص‌های تغذیه‌ای بسیار مهمی می‌باشند که بیانگر وضعیت فیزیولوژیکی حشره و در راستای آن تأثیر ترکیبات گیاهی بر فیزیولوژی آنزیم‌های گوارشی آفت می‌باشند. در گیاهان، ترکیبات شیمیایی ثانویه و مجموعه‌ای از پروتئین‌های مهارکننده‌ی فعالیت گوارشی وجود دارند که می‌توانند علاوه بر تأثیر احتمالی بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی، بر شاخص‌های تغذیه‌ای آفت نیز اثرگذار باشند. لذا با مطالعه شاخص‌های تغذیه‌ای یک حشره روی گیاهان میزبان می‌توان کیفیت غذایی گیاه میزبان را برای حشره آفت تعیین کرده و از اطلاعات به دست آمده در برنامه‌های مدیریتی آفت مورد نظر استفاده نمود. امروزه هدف قراردادن آنزیم‌های گوارشی حشرات زیان‌آور توسط مهارکننده‌های پروتئینی طبیعی موجود در ارقام مقاوم یا گیاهان تراریخته‌ی مقاوم حاوی مهارکننده‌های مؤثر به دست آمده از

6 - Kennedy et al

7 - Lewis et al

8 - Waldbaur

9 - Kim & Lee

10 - Liu et al

11 - Hayens & Millar

گیاهان دیگر و شناسایی ژن‌های کدکننده‌ی مقاومت گیاهی و انتقال آن‌ها به ژنوم ارقام گیاهی پرمحصول و حساس به آفت، یکی از کاربردی‌ترین رهیافت‌ها در برنامه‌ی مدیریت تلفیقی آفات می‌باشد. خاصیت سمی چندین گروه مختلف از پروتئین‌های گیاهی نسبت به طیفی از آفات، به اثبات رسیده است (جانگسما و بالتر^{۱۲}، 1997). مهارکننده‌های آنزیم‌های هضم پروتئین در دستگاه گوارش حشرات باعث به بهره‌برداری ضعیف حشرات از منابع غذایی، کندی نشو و نما و حتی مرگ آن‌ها به علت گرسنگی می‌گردد (گیت‌هاوس و گیت‌هاوس^{۱۳}، 1999).

در بین آنزیم‌های گوارشی مؤثر در هضم مواد غذایی، پروتئازها وظیفه‌ی هضم مواد پروتئینی خورده شده توسط حشره را بر عهده دارند. امروزه ایجاد اختلال در متابولیسم پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه به وسیله‌ی پروتئازهای با منشأ گیاهی به عنوان یک هدف کلیدی برای استفاده در کنترل حشرات مورد توجه قرار گرفته است (هیلدر و همکاران^{۱۴}، 1992). در بسیاری از حشرات سرین پروتئینازها (تریپسین، کیموتریپسین و الاستاز) آنزیم‌های اصلی هضم پروتئین می‌باشند. به طور معمول تلاش می‌شود ژن‌های کدکننده مهارکننده‌های سرین پروتئینازها را کلون کرده و به داخل گیاهان تراریخته وارد کنند (توماس و همکاران^{۱۵}، 1994). با توجه به این که یکی از مهم‌ترین اثرات ترکیبات شیمیایی ثانویه‌ی موجود در گیاهان تأثیر آن‌ها روی آنزیم‌های گوارشی حشرات می‌باشد، لذا بررسی آنزیم‌های گوارشی حشرات به منظور طراحی دقیق رهیافت‌های کنترلی مناسب در جهت استفاده‌ی موفقیت‌آمیز از مهارکننده‌های پروتئاز در مدیریت تلفیقی آفات ضروری است (جانگسما و همکاران، 1995، 1996).

اهداف این پژوهش عبارت بودند از:

1- بررسی شاخص‌های تغذیه‌ای لاروهای سن چهارم و حشرات کامل شپشه قرمز آرد در واکنش به

تغذیه از هیبریدهای مختلف ذرت

2- بررسی تأثیر هیبریدهای مختلف ذرت بر فیزیولوژی آنزیم‌های گوارشی پروتئاز و آمیلاز لاروهای

¹² - Jongsma & Bolter

¹³ - Gatehouse & Gatehouse

¹⁴ - Hilder et al

¹⁵ - Thomas et al

سن چهارم و حشرات کامل شپشه قرمز آرد

1-2-2-1- مروری بر تحقیقات گذشته

1-2-2-1- شپشه قرمز آرد *T. castaneum*

1-2-2-2- جایگاه شپشه قرمز آرد در رده بندی حشرات (اپو^{۱۶}، 1981)

Class: Insecta

Sub class: Pterygota

Order: Coleoptera

Family: Tenebrionidae

Genus: *Tribolium*

Species: *T. castaneum* (Everts), 1898

1-2-3-3- مناطق انتشار شپشه قرمز آرد

شواهد موجود نشان می‌دهند که خاستگاه احتمالی شپشه قرمز آرد هندوستان و یا استرالیا می‌باشد، که از آنجا به اروپا و امریکا و به نقاط دیگر جهان منتشر شده است. این آفت در حال حاضر در بسیاری از کشورهای گرمسیری، نیمه گرمسیری و معتدل جهان فعالیت داشته و خسارت اقتصادی قابل توجهی به محصولات انباری به ویژه ذرت وارد می‌کند (اپو، 1981).

1-2-4-4- اهمیت اقتصادی و دامنه میزبانی شپشه قرمز آرد

شپشه قرمز آرد از مهمترین آفات آرد و مواد نشاسته‌ای محسوب می‌شود. این آفت انباری علاوه بر آرد، از دانه‌های غلات مختلف، بلغور، سبوس و دانه‌های بادام‌زمینی، کرچک، کنجد، کتان، کاکائو و میوه‌های خشک نیز تغذیه می‌کند. لاروهای این حشره قادر به تغذیه از دانه‌های سالم غلات نیستند، ولی از دانه‌های شکسته غلات و یا دانه‌هایی که قبلاً مورد تغذیه سایر آفات قرار گرفته‌اند، تغذیه می‌کنند. هر لارو روزانه معادل هم وزن خود آرد می‌خورد و با فضولات و پوسته‌های خود آن را آلوده می‌کند و از این

¹⁶-Eppo
²-Good

جهت ارزش نانوائی آرد را نیز کاهش می‌دهد. در آلودگی شدید و فراوانی فضولات لاروی، آرد تلخ‌شده و بوی نامطبوع از آن استشمام می‌شود (گود²، 1936، نقل از ناصری و همکاران، 2016).

1-3- استفاده از ارقام مقاوم

مقاومت گیاهان به حشرات عبارت است از کیفیت‌های وراثتی گیاه که خسارت حشره را تحت تأثیر قرار می‌دهد به طوری که در تراکم مساوی از جمعیت حشره، محصول بیشتر و با کیفیت بالاتر در مقایسه با ارقام معمولی که فاقد این ویژگی‌های ارثی می‌باشد، تولید کند (پینتر¹⁷، 1951). به عبارت دیگر، مقاومت گیاهان به حشرات عبارت است از کیفیت‌های وراثتی گیاه که موجب می‌شود تا گیاهی از یک رقم یا یک گونه در مقایسه با گیاه حساس که فاقد این کیفیت‌های ارثی می‌باشد از حمله حشره آفت خسارت کمتری ببیند (نوری قنبلانی و همکاران، 1392). ارقام مقاوم که در مدیریت تلفیقی آفات همراه با دیگر روش‌های کنترل آفت مورد استفاده قرار می‌گیرند، از اجزای اساسی IPM محسوب می‌شوند و با استفاده آن‌ها می‌توان شدت فشار اعمال شده توسط سموم شیمیایی را علیه آفات کاهش داد و بدین ترتیب احتمال بروز مقاومت توسط آفت نسبت به سموم شیمیایی را کاهش داد (پاندا و خوش¹⁸، 1995). گیاهان واجد کاتاگوری مقاومت آنتی‌بیوزی می‌توانند با کاهش بقای مراحل مختلف رشدی، جثه بدن، طول عمر حشرات کامل و تولیدمثل حشرات نسل بعد و یا با تأثیر غیرمستقیم از طریق افزایش احتمال قرارگیری حشرات در معرض دشمنان طبیعی با طولانی‌تر کردن مراحل رشدی قبل از بلوغ، نقش مؤثری در کنترل حشرات آفت داشته باشند (دنت¹⁹، 2000؛ سرفراز و همکاران²⁰، 2006). توانایی حشرات در تکمیل هر چه سریع مراحل حساس قبل از بلوغ و رسیدن به مرحله‌ی تولید نتاج، وابستگی زیادی به عناصر غذایی موجود در گیاهان میزبان دارد. بنابراین، ارقام دارای مقاومت نسبی بالا ممکن است اثر بخشی سایر روش‌های کنترل آفت از جمله استفاده از دشمنان طبیعی و حشره‌کش‌ها را از طریق کندکردن نشو و نمای مراحل قبل از بلوغ و طولانی‌تر کردن زمان رسیدن به مرحله‌ی تولید نتاج افزایش

¹⁷ - Painter

¹⁸ - Panda & Khosh

¹⁹ - Dent

²⁰ - Sarfraz et al

دهند (زالوکی و مالکولم^{۲۱}، 2002). بنابراین، ارقام مقاوم گیاهی می‌تواند به عنوان روش مکمل کنترل بیولوژیک و کنترل شیمیایی در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات مورد استفاده قرار گیرد. با توجه به خسارت زیادی که همه ساله به وسیله حشرات به محصولات کشاورزی در سطح جهانی وارد می‌شود، تهیه ارقام مقاوم علی‌رغم نیاز به زمان طولانی و هزینه‌ی اولیه نسبتاً بالا، روشی کم‌خطر برای محیط زیست، حیات وحش و انسان بوده و در دراز مدت مقرون به‌صرفه اقتصادی می‌باشد (هنریش و همکاران^{۲۲}، 1985). لذا ارقام مقاوم گیاهی یکی از اجزای مهم در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات به‌شمار می‌رود. دارا بودن ویژگی‌هایی نظیر تخصصی بودن برای یک آفت کلیدی خاص و یا گروه محدودی از آفات، دارا بودن خاصیت تجمعی و به تبع آن تأثیر روی نسل‌های متوالی آفت، سازگاری با محیط زیست و پایداری نسبتاً بالا و در نهایت قابلیت تلفیق آن با سایر روش‌های کنترل در IPM، سبب به وجود آمدن جایگاه ویژه ارقام مقاوم در IPM شده است (هورن^{۲۳}، 1988). در بررسی مقاومت گیاهان به حشرات گیاهخوار از روش‌های متنوعی استفاده می‌شود (نوری قنبلانی و همکاران، 1392) که متداول‌ترین آن‌ها عبارتند از:

1- مطالعه‌ی شاخص‌های تغذیه‌ای حشره روی ارقام مختلف گیاه میزبان

2- مطالعه‌ی میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی حشره روی ارقام مختلف گیاهان میزبان

لذا در این قسمت منابع مرتبط با موضوعات فوق به صورت مختصر مورد بررسی قرار می‌گیرند:

1-4- شاخص‌های تغذیه‌ای

تغذیه عبارت است از تأمین کلیه‌ی ترکیباتی که یک موجود زنده برای رشد، توسعه‌ی بافت‌ها، تولیدمثل و تأمین انرژی بدن خود نیاز دارد. اگرچه حشرات قادرند برخی از این مواد شیمیایی را خودشان سنتز کنند ولی بیشتر حشرات، آن‌ها را از طریق خوردن مواد غذایی کسب می‌نمایند (چپمن^{۲۴}، 1998). کیفیت گیاه میزبان (میزان نیتروژن، کربن، چربی‌ها، عناصر معدنی و ترکیبات دفاعی در گیاه

²¹ - Zalucki & Malcolm

²² - Heinrichs et al

²³ - Horn

²⁴ - Chapman

میزبان) زنده‌مانی و رشد جمعیت حشرات گیاهخوار را تحت تأثیر قرار می‌دهند (آومک و لدر^{۲۵}، 2002). تعادل غذایی گیاهان میزبان در راسته‌ی سخت‌بالپوشان نیز مانند دیگر راسته‌های حشرات اهمیت زیادی دارد (توماس و همکاران، 1994). سخت‌بالپوشان نسبت به رژی‌های غذایی نامناسب و نامتعادل به شیوه‌های مختلف واکنش نشان می‌دهند (چپمن، 1998). نوع و میزان عناصر غذایی گیاه، ترکیبات شیمیایی ثانویه گیاه و توانایی هضم و جذب غذای خورده شده توسط حشره از جمله عواملی هستند که مطلوبیت گیاه میزبان را برای تغذیه، نشو و نما و ایجاد جمعیت نسل بعد توسط حشره‌ی آفت تحت تأثیر قرار می‌دهند (اسکرایبر و اسلانسکی^{۲۶}، 1981). بنابراین، نوع و مقدار غذای خورده شده توسط حشره و بازدهی تبدیل آن به زیست‌توده بدن جزء عوامل تعیین‌کننده در نشو و نما و حشرات محسوب می‌شوند. تفاوت در میزان ترکیبات شیمیایی دفاعی در گیاهان میزبان مختلف یک حشره (مارتین و پولین^{۲۷}، 2004) و توانایی موجود زنده در هضم عناصر غذایی به ویژه پروتئین (سوگبسان و آگومبا^{۲۸}، 2008) می‌تواند بر پارمترهای تغذیه‌ای و میزان کارایی رشد حشره تأثیرگذار باشد.

1-5- آنزیم‌های گوارشی در حشرات

بخش مهمی از غذای حشرات را درشت مولکول‌هایی نظیر پلی‌ساکاریدها، لیپیدها و پروتئین‌ها تشکیل می‌دهند (چپمن، 1998) که به ترتیب، توسط کربوهیدرازها، لیپازها و پروتئازها تجزیه می‌شوند (چپمن، 1991). به طور کلی، مولکول‌های کوچک قابلیت انتقال به بافت بدن را دارند، در حالی که مولکول‌های بزرگتر باید قبل از جذب، در داخل لوله‌ی گوارش به مولکول‌های کوچک سازنده‌ی خود شکسته شوند (گیت‌هوس، 1999؛ فیگورا و همکاران^{۲۹}، 2003). بنابراین، یکی از عوامل بسیار مهمی که در تکامل و تنوع حشرات دخالت دارد، توانایی آن‌ها در هضم و بهره‌برداری از مواد آلی مختلف برای تغذیه می‌باشد. تغییرات و اعمالی که دستگاه گوارش روی غذای مورد تغذیه‌ی حشره انجام می‌دهد، اهمیت

²⁵ - Awmack and Leather

²⁶ - Scriber and Slansky

²⁷ - Martin and Pulin

²⁸ - Sogbesan and Ugwumba

²⁹ - Figueira et al

زیادی برای زندگی حشره دارد. هضم مواد غذایی مختلف در حشرات به آنزیم‌های دستگاه گوارشی وابسته است. لذا آگاهی از سیستم گوارشی و هضم در حشرات پیش‌نیاز بهبود روش‌های کنترل مبتنی بر هدف قرار دادن دستگاه گوارش می‌باشد (ویگل‌سورس^{۳۰}، ۱۹۷۲؛ نیشن^{۳۱}، ۲۰۰۱).

1-6- اسیدیتته‌ی دستگاه گوارش در حشرات

اسیدیتته‌ی دستگاه گوارش به ویژه روده‌ی میانی از مهم‌ترین ویژگی‌های محیط داخلی بدن حشرات است که روی آنزیم‌های گوارشی تأثیر می‌گذارد. تغییرات زیاد در اسیدیتته‌ی روده‌ی میانی، مشکلاتی را برای آنزیم‌های گوارشی حشرات به وجود می‌آورد و تعداد کمی از آنزیم‌ها می‌توانند فعالیت بهینه را در دامنه‌ی وسیعی از اسیدیتته از خود نشان دهند. در نتیجه در بیشتر گونه‌های حشرات با اسیدیتته‌ی روده‌ی میانی متفاوت گروه‌های مختلف از آنزیم‌ها یافت می‌شوند (مک‌گای و همکاران^{۳۲}، ۱۹۹۵). بررسی‌ها نشان می‌دهد که اسیدیتته‌ی روده‌ی میانی یک خصوصیت ویژه‌ی گونه است و علاوه بر آن معمولاً در داخل گونه‌های هر راسته حشرات نیز بسیار مشابه است (کیتینگ و همکاران^{۳۳}، ۱۹۹۰).

حشرات با روده‌ی میانی دارای اسیدیتته‌ی قلیایی از جمله بالپولکداران، دارای سرین پروتئازها مانند تریپسین، کیموتریپسین و الاستاز می‌باشند که اسیدیتته‌ی فعالیت بهینه‌ی آن‌ها خنثی یا قلیایی می‌باشد. گونه‌هایی که دارای روده‌ی میانی با اسیدیتته‌ی اسیدی می‌باشند، مانند بعضی سخت‌بالپوشان، دوبالان و ناجوربالان برای هضم پروتئین‌ها به سیستمین یا آسپارتیک پروتئازها متکی می‌باشند که در اسیدیتته‌ی اسیدی بیشترین فعالیت را از خود نشان می‌دهند (جانسون و رابوسکی^{۳۴}، ۲۰۰۰).

1-7- آنزیم گوارشی آمیلاز

کربوهیدرات‌ها فقط به شکل مونوساکاریدها قابل جذب هستند و این در حالی است که کربوهیدرات‌های موجود در رژیم‌های غذایی حشرات اغلب به صورت پلی‌ساکارید و دی‌ساکارید می‌باشند.

³⁰ - Wigglesworth

³¹ - Nation

³² - Mc Ghie et al

³³ - Keating et al

³⁴ - Johnson and Rabosky

پلی ساکارید سلولز، جزء اصلی گیاهان سبز می‌باشد. اگرچه بسیاری از حشرات گیاهخوار هستند، اما تعداد بسیار معدودی از آن‌ها قادر به هضم سلولز می‌باشند و تعدادی دیگر نیز برای تجزیه‌ی سلولز به ریزجانداران دستگاه گوارشی وابسته هستند. نشاسته و گلیکوژن، به ترتیب، پلی‌ساکاریدهای اصلی ذخیره‌ای در گیاهان و حشرات می‌باشند که به وسیله‌ی آمیلازها قابلیت هضم و جذب پیدا می‌کنند (چپمن، 1998).

کربوهیدرازها وظیفه هیدرولیز کامل کربوهیدرات‌ها و تبدیل آن‌ها به مونوساکاریدها را برعهده دارند. تقسیم‌بندی این آنزیم‌ها براساس زیرنهشت اختصاصی آن‌ها انجام گرفته است. یک گروه از این کربوهیدرازها، آمیلازها هستند. آنزیم آلفا-آمیلاز در ریزجانداران، گیاهان و جانوران دیده می‌شود (لاوتی و همکاران^{۳۵}، 2010) و سطح فعالیت آن به رژیم غذایی مورد تغذیه وابسته است (استروبل و همکاران^{۳۶}، 1998). ویندیش و ماتر^{۳۷} (1965) آمیلازها به دو گروه اندوآمیلازها و اگزوآمیلازها تقسیم می‌شوند و به دلیل نقش مهمی که در تجزیه نشاسته دارند، در بقای گیاهان، جانوران و ریزجانداران نقش اساسی را ایفا می‌نمایند. این آنزیم، در ترکیبات نشاسته‌ای، گلیکوژن و دیگر کربوهیدرات‌های رژیم غذایی پیوندهای آلفا-دی-1 و 4-گلوکان را هیدرولیز می‌کند (استروبل و همکاران، 1998؛ فرانکو و همکاران^{۳۸}، 2000). آلفا-آمیلاز نشاسته را به مالتوز و دیگر الیگومرها تبدیل می‌کند که سپس توسط آلفا-گلوکوزیداز به گلوکز تبدیل می‌شود (فریرا و همکاران^{۳۹}، 1994؛ ترا و همکاران^{۴۰}، 1996). آنزیم‌های هضم توسط سلول‌های مخاطی روده‌ی میانی سنتز و ترشح می‌شود (بیکر^{۴۱}، 1983).

1-8- آنزیم‌های گوارشی پروتئاز

آنزیم‌هایی که مسئولیت هیدرولیز کامل پروتئین‌ها و تبدیل آن‌ها را به اسید آمینه دارند، پروتئازها نامیده شده‌اند، که روی باندهای پپتیدی عمل می‌کنند. برخی از آنزیم‌ها آزادانه در داخل روده میانی

³⁵ - Louati et al

³⁶ - Strobl et al

³⁷ - Windish and Mhater

³⁸ - Franco et al

³⁹ - Ferreira et al

⁴⁰ - Terra et al

⁴¹ - Baker

هستند، درحالی که برخی دیگر به فضای پرده اطراف غذا^{۴۲} متصل هستند و بیشتر در فضای داخلی پرده اطراف غذا هستند تا اینکه در روده جلویی یا عقبی وجود داشته باشند.

پروتئازها براساس مکانیسم‌های کاتالیک به دو گروه اندوپروتئیناز (اندوپتیداز) و اگزوپروتئاز (اگزوپتیداز) تقسیم می‌شوند و شناسایی آن‌ها به وسیله‌ی معرف‌های خاص میسر می‌باشد (پائولیلو و همکاران^{۴۳}، 2000). مشخصه‌ای که اختلاف بین این دو گروه را نمایان می‌کند این است که اندوپروتئینازها به پروتئین‌هایی که به اسید آمینه‌های زنجیره‌ی پتیدی متصل شده‌اند حمله می‌کنند و زنجیره پروتئینی را از قسمت میانی شکسته و آن را به پلی پتیدها تجزیه می‌کنند، در حالی که اگزوپروتئازها به یکی از دو انتهای زنجیره پروتئینی حمله می‌کنند و از ناحیه انتهایی آمینو اسید یا کربوکسی باعث شکسته شدن زنجیره پروتئینی می‌شوند (بارت و راولینگز^{۴۴}، 1991).

1-8-1- اندوپروتئینازها

اندوپروتئینازها که به اندوپروتئاز نیز معروف هستند نقش بسیار مهمی در هضم پروتئین دارند. این آنزیم‌ها هضم پروتئین را با شکستن یک پیوند داخلی در آن آغاز می‌کنند. چون توالی اسیدآمینه در طول زنجیره پتیدی تغییر می‌کند، بنابراین انواع مختلفی از پروتئینازها برای هیدرولیز کردن آن‌ها لازم است. براساس جایگاه فعال و مکانیسم مربوطه، پروتئینازهای گوارشی به سه گروه سرین، سیستئین و آسپاراتیک پروتئینازها دسته‌بندی می‌کنند. سرین و سیستئین پروتئینازها رایج‌ترین پروتئینازهای گوارشی حشرات هستند (ترا و فریرا، 1994).

1-8-2- اگزوپروتئینازها

اگزوپروتئینازها که اگزوپتیداز نیز نامیده می‌شوند باعث هیدرولیز اسیدهای آمینه از طریق ان-ترمینال زنجیره پتیدی می‌شوند. در یک انتهای زنجیره پتیدی یک گروه آمینی ($-NH_2$) و در انتهای دیگر آن یک عامل کربوکسیل ($-COOH$) وجود دارد. به اگزوپتیدازهایی که باعث شکستن زنجیره

⁴² - membrane peritrophic

⁴³ - Paulillo et al

⁴⁴ - Barrett & Rawlings

پپتیدی از انتهای آمینی می‌شوند، آمینوپپتیداز و آن‌هایی که باعث شکستن اسیدهای آمینه از انتهای کربوکسی می‌شوند کربوکسی پپتیداز گفته می‌شود (برون^{۴۵}، 1995).

1-9- مروری بر تحقیقات انجام شده روی شاخص‌های تغذیه‌ای و فعالیت آنزیمی

ویژگی‌های زیستی، شاخص‌های تغذیه‌ای و فعالیت برخی آنزیم‌های گوارشی شپشه قرمز آرد روی غلات مختلف مورد بررسی قرار گرفته است که در اینجا به نتایج تعدادی از این پژوهش‌ها اشاره می‌شود. آتشی و همکاران (1394) تأثیر اسانس چویل (*Ferulago angulata* Boiss.) و گندناهی کوهی (*Brassica aucheri* Boiss.) را بر شاخص‌های تغذیه‌ای شپشه‌ی قرمز آرد بررسی کرده و نشان دادند که اسانس چویل دارای اثر منفی بیشتر نسبت به اسانس گندناهی کوهی است و نرخ رشد نسبی و نرخ مصرف نسبی حشره را به طور معنی‌داری کاهش داد. همچنین اسانس چویل بازدهی تبدیل غذای خورده شده را در مقایسه با اسانس گندناهی کوهی به طور معنی‌داری بیشتر کاهش داد. به طور کلی اسانس چویل در غلظت‌های بسیار پایین در مقایسه با گندناهی کوهی اثر بازدارندگی تغذیه‌ای خوبی را نشان داد. چن و همکاران^{۴۶} (1992) گزارش کردند که Oryzacystatin موجود در برنج یک مهارکننده پروتئیناز سیستین است که بر *T. castaneum* و *Sitophilus oryzae* L. اثرات بازدارنده رشد دارد.

اپرت و همکاران^{۴۷} (2003) اثر مهارکننده‌های پروتئینازی سویا و سیب‌زمینی را روی پروتئینازهای گوارشی و رشدی شپشه قرمز آرد *T. castaneum* بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد که مهارکننده تریپسین سویا به تنهایی اثری بر رشد حشره ندارد، اما در ترکیب با مهارکننده سیستین سیب‌زمینی اثر بازدارندگی بالایی روی آنزیم پروتئیناز و رشد حشره دارد.

شفیق و همکاران (2006) ترجیح تغذیه‌ای و رشد شپشه‌ی قرمز آرد را روی گندم خشک، گندم تر، آرد درجه 1، آرد درجه 2 و سبوس بررسی کرده و نشان دادند که بیشترین ترجیح تغذیه‌ای این حشره به ترتیب روی آرد درجه 2، آرد درجه 1 و سبوس گندم و کمترین ترجیح تغذیه‌ای روی گندم خشک و تر

45 - Browne

46 - Chen et al

47 - Opert et al

بود. دوره‌ی قبل از بلوغ حشرات کامل برای آرد درجه 2، درجه 1، سبوس، گندم خشک و تر به ترتیب 24، 25، 28 و 70 روز بود. بیشترین کاهش وزن لاروی روی آرد درجه 1 و کمترین مقدار آن روی گندم خشک به ثبت رسید.

جیبیلو و همکاران⁴⁸ (2008) تأثیر عصاره هفت گیاه مختلف شامل اسپند (*Peganum harmaha* L.)، ترپ وحشی (*Raphanus raphanistrum* L.)، سرخس عقابی (*Pteridium aquilinum* L.)، زراوند (*Aristolochia baetica* L.)، قنطاریون صغیر (*Centaurium erythraea* Rafn.)، نرگس ترمپت (*Ajuga iva* (L.) Schrb.) و چرخه (*Launaea arborescens* (Batt.) Murb.) را بر تکامل لاروی شپشه‌ی قرمز آرد بررسی و گزارش کردند که احتمالاً مهارکننده‌های آلفا-آمیلاز موجود در این گیاهان بر روی وزن لاروها، مرگ لاروها و دوره‌ی لاروی مؤثر هستند. به طوری که عصاره‌های اسپند، ترپ وحشی، زراوند و قنطاریون صغیر طول دوره‌ی لاروی را افزایش می‌دهند. همچنین عصاره‌های سرخس عقابی، نرگس ترمپ و چرخه باعث کاهش طول دوره‌ی لاروی می‌شوند. این مطالعه نشان داد که کمتر بودن میزان آنزیم آلفا-آمیلاز موجود در این گیاهان رشد و نمو لاروها را کوتاه‌تر می‌کند.

خان⁴⁹ (2011) تأثیر مهارکننده پروتئینی آلفا-آمیلاز نخودفرنگی، لوبیا قرمز، ذرت، گندم و ارزن را در شرایط آزمایشگاهی روی شپشه‌ی قرمز آرد بررسی و مشاهده کرد که از میان پنج گیاه مورد آزمایش مهارکننده‌های پروتئینی گندم، ذرت و ارزن خاصیت بازدارندگی بالایی روی آلفا-آمیلاز شپشه‌ی قرمز آرد داشتند.

فابرس و همکاران⁵⁰ (2014) بازدهی تغذیه‌ای شپشه‌ی قرمز آرد را روی لوبیا چشم‌بلبلی (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.)، لوبیا قرمز (*Phaseolus vulgaris* L.) و آرد گندم بررسی و گزارش کردند که این رژیم‌های غذایی سبب کاهش رشد و بقای حشرات می‌شود. در این تحقیق اندازه لاروهای تغذیه کرده روی *V. unguiculata* حدود 60 درصد کاهش یافت. در لاروهای تغذیه کرده روی *P. vulgaris* میزان

48 - Jbilou et al

49 - Khan

50 - Fabres et al

تلفات به 100 درصد رسید. میزان کربوهیدرات و تری گلیسیرید حشره هم در طول دوره رشدی روی این رژیم‌های غذایی نوساناتی نشان دادند. لاروهای تغذیه کرده روی آرد گندم بیشترین محتوای کربوهیدرات را 21 روز پس از تفریح و بیشترین محتوای تری گلیسیرید را 15 و 21 روز پس از تفریح داشتند. لاروهای تغذیه کرده از گندم در طول رشد و نمو خود فعالیت آلفا-آمیلاز را نشان دادند. همچنین آنها گزارش کردند که فعالیت لاروهای تغذیه کرده روی لوبیا قرمز، 15 روز پس از تفریح حدود 50 درصد افزایش یافت، که نشان می‌دهد رشد لاروها وابسته به کیفیت غذای مورد استفاده است.

ساقیر و همکاران⁵¹ (2014) شاخص‌های تغذیه‌ای *T. castaneum* را در واکنش به تغذیه از آرد گندم، ذرت و جو بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد که بیشترین شاخص مصرف و نرخ رشد نسبی روی آرد ذرت و کمترین مقدار آن روی آرد جو بود. همچنین، بیشترین و کمترین بازدهی تبدیل غذای خورده شده به ترتیب روی آرد جو و ذرت مشاهده شد. مطالعات ایشان نشان داد که جو نامناسب‌ترین میزبان برای تغذیه‌ی این حشره می‌باشد.

خردپیر (2014) ترجیح تغذیه‌ای آرد چهار رژیم غذایی شامل آرد گندم، ذرت، برنج و سیب‌زمینی را روی شپشه‌ی قرمز آرد بررسی و گزارش نمود که بیشترین ترجیح غذایی این آفت روی گندم و کمترین مقدار آن روی سیب‌زمینی می‌باشد و نشان داد که آرد گندم به شدت در معرض آسیب این آفت است و در انبارها به برنامه‌های کنترلی سخت‌گیرانه‌ای نسبت به این آفت نیاز است.

سامی⁵² (2014) تأثیر ترکیبات شیمیایی استخراج شده از درخت سریش (*Azadirachta indica* (Neem) را روی شپشه‌ی قرمز آرد مورد بررسی قرار داد و نتیجه گرفت که ترکیبات شیمیایی ثانویه سریش (ساپونین و آزادیراکتین) روی آنزیم آلفا-آمیلاز شپشه‌ی قرمز آرد اثر مهارکنندگی داشته و باعث مرگ‌ومیر این حشره می‌شود.

⁵¹ - Sagheer et al

⁵² - Sami

فصل دوم:

مواد و روش‌ها

2-1- تهیه هیبریدهای مختلف ذرت

بذور نه هیبرید مختلف ذرت مورد بررسی در این پژوهش شامل هیبریدهای Simax, SC704, BC678, AS71, SC703, PL472, AR89, KSC703 و AS77 از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مغان تهیه گردید. بذور مورد استفاده ابتدا جهت رفع آلودگی‌های قارچی و باکتریایی توسط آب معمولی شسته شده و در مجاورت هوا خشکانده شدند. جهت انجام آزمایش، بذور هیبریدهای مختلف ذرت به طور جداگانه با استفاده از دستگاه آسیاب‌کن آرد شدند.

2-2- پرورش آزمایشگاهی شپشه قرمز آرد

تخم‌های شپشه قرمز آرد از کلنی آزمایشگاهی موجود در آزمایشگاه گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه محقق اردبیلی تهیه و سپس روی هیبریدهای مختلف ذرت در ظروف پلاستیکی جداگانه (قطر 20 و ارتفاع 8 سانتی‌متر) به طور گروهی پرورش داده شد. ظروف پرورش در اتاقک رشد با دمای 30 ± 2 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 60 ± 5 درصد در شرایط تاریکی کامل نگهداری شدند. به منظور تخم‌گیری از حشرات کامل، از ظروف استوانه‌ای پلاستیکی به قطر 12 و ارتفاع 22 سانتی‌متر استفاده گردید (شکل 2-1).



شکل 2-1- ظروف مختلف مورد استفاده در پرورش گروهی (الف) و انفرادی (ب) لارو و حشره کامل شپشه قرمز آرد (اصل)

2-3- اندازه‌گیری شاخص‌های تغذیه‌ای شپشه قرمز آرد

به منظور اندازه‌گیری شاخص‌های تغذیه‌ای لارو سن چهارم شپشه قرمز آرد روی هر یک از هیبریدهای ذرت، تعداد 70 عدد لارو هم سن بیرون آمده از تخم‌های حاصل از حشرات پرورش یافته روی هر یک از هیبریدهای ذرت در هفت گروه 10 تایی داخل ظروف پتری پلاستیکی 6 سانتی‌متری (هر کدام محتوی 0/5 گرم ذرت آرد شده) پرورش داده شدند. شاخص‌های تغذیه‌ای شپشه قرمز آرد از زمان ظهور لاروهای سن چهارم ثبت شد. بدین منظور وزن لاروها قبل از تغذیه، وزن لاروها بعد از تغذیه، وزن غذای داده شده و وزن غذای باقی مانده در انتهای آزمایش با استفاده از ترازوی 4 صفر با دقت 0/0001 گرم تعیین شد. پس از ظهور حشرات کامل، شاخص‌های تغذیه‌ای آن نیز با روش مشابه محاسبه گردید. هر دو آزمایش تعیین شاخص‌های تغذیه‌ای لاروهای سن چهارم و حشرات کامل در قالب طرح کاملاً تصادفی و هر کدام در 7 تکرار برای هر هیبرید انجام شد. سپس شاخص‌های تغذیه‌ای لارو سن چهارم و حشره کامل شپشه قرمز آرد روی هیبریدهای مختلف ذرت با استفاده از فرمول‌های ارائه شده توسط والدبائور⁵³ (1968) به شرح زیر محاسبه شد:

$$ECI = \frac{P}{E} \quad \text{شاخص مصرف (CI) Consumption Index}$$

$$CI = \frac{E}{A} \quad \text{کارایی تبدیل غذای خورده شده (ECI) Efficiency of Conversion of Ingested Food}$$

$$RCR = \frac{E}{W_0 T} \quad \text{نرخ مصرف نسبی (RCR) Relative Consumptin Rate}$$

$$RGR = \frac{P}{W_0 T} \quad \text{نرخ رشد نسبی (RGR) Relative Growth Rate}$$

در این فرمول‌ها:

E = وزن غذای خورده شده

A = میانگین وزن حشره در طول دوره‌ی تغذیه

⁵³ . Waldbaur

$P =$ افزایش وزن حشره طی دوره‌ی تغذیه

$W_0 =$ وزن اولیه حشره

$T =$ مدت زمان تغذیه حشره (روز)

2-4-4- اندازہ‌گیری تأثیر هیبریدهای مختلف ذرت بر آنزیم‌های گوارشی

2-4-4-1- تهیه‌ی بافر

برای تعیین اسیدیتته مناسب برای فعالیت‌های آنزیمی دو بافر مورد نیاز است. بافر نخست بافری یونیورسال است که دارای فسفات-بورات سدیم 50 میلی‌مولار می‌باشد که دامنه‌ی وسیعی از اسیدیتته‌های اسیدی و قلیایی (2 تا 12) را شامل می‌شود. بافر دوم نیز با پوشش دامنه‌ای گسترده از اسیدیتته‌های قلیایی و اسیدی (2 تا 10) ترکیبی از سوکسینات-گلايسین-2، مورفولینواتان سولفونیک اسید 10 میلی‌مولار را شامل می‌شود. در آزمایش‌های آنزیمی مربوط به پروتئازها از بافر فسفات-بورات سدیم و در سنجش‌های آنزیمی مربوط به آمیلازها از بافر سوکسینات-گلايسین-2، مورفولینواتان سولفونیک اسید استفاده شد (ترا و فریرا، 1994).

2-4-4-2- تهیه عصاره آنزیمی از روده میانی

پس از تغذیه لاروها و حشره کامل شپش‌ی قرمز آرد از هیبریدهای مختلف ذرت، لارو سن چهارم ابتدا روی یخ بی‌حس شده و سپس با اسکارپل سر حشره قطع شد. سپس به کمک دو پنس در انتهای بدن خراش ایجاد کرده و با یک پنس از ناحیه‌ی سر و با پنس دیگر از ناحیه‌ی انتهای بدن گرفته و لوله‌ی گوارش بیرون کشیده شد. برای حشره کامل کل بدن له و به ازای هر رقم ذرت 100 عدد روده‌ی میانی استخراج شد. سپس روده‌ی میانی با استفاده از یک هموژنایزر شیشه‌ای دستی در دمای 4 درجه سلسیوس همگن شد. مخلوط‌های همگن حاصل در دمای 4 درجه سلسیوس با سرعت $(\times g) 12000$ به مدت 10 دقیقه سانتریفیوژ شدند. رنشین‌های حاصل به میکروتیوب‌های جدید منتقل و در دمای 20- درجه سلسیوس برای استفاده‌های بعدی نگهداری شدند.

2-4-3- بررسی فعالیت پروتئولیتیک گوارشی لاروهای سن چهارم و حشرات کامل شیشه‌ی قرمز آرد روی هیبریدهای مختلف ذرت

برای سنجش فعالیت پروتئازی شیشه‌ی قرمز آرد در اسیدپه‌های بهینه از زیرنهشت‌های پروتئینی آزوکازئین بر مبنای کار الپیدینا و همکاران^{۵۴} (2001) با کمی تغییر استفاده شد. مخلوط واکنش شامل 80 میکرولیتر محلول آزوکازئین 1/5 درصد در بافر مربوطه و 50 میکرولیتر عصاره آنزیمی بود که به مدت 50 دقیقه در دمای 37 درجه‌ی سلسیوس انکوبه شد. هضم پروتئینی با اضافه کردن 100 میکرولیتر تری‌کلرواستیک اسید 30 درصد متوقف و آزوکازئین هیدرولیز نشده‌ی موجود در واکنش با قرار دادن در دمای 4 درجه‌ی سلسیوس به مدت نیم ساعت بطور کامل رسوب داده شده و سپس با سرعت 15000(xg) به مدت 15 دقیقه سانتریفیوژ شد. حجمی مساوی از سدیم هیدروکسید دو نرمال به روشین اضافه شده و جذب آن در طول موج 440 نانومتر تعیین شد. در شاهد (بلانک)، بعد از اضافه کردن تری‌کلرو استیک‌اسید به مخلوط واکنش عصاره‌ی آنزیمی افزوده شد. هر یک از آزمایش‌های مربوط به تیمارها و شاهد در سه تکرار انجام گرفت.

2-4-4- تعیین فعالیت آمیلولیتیک گوارشی لاروهای سن چهارم و حشرات کامل شیشه‌ی قرمز آرد روی هیبریدهای مختلف ذرت

به منظور اندازه‌گیری فعالیت آمیلولیتیک گوارشی شیشه‌ی قرمز آرد روی هیبریدهای مختلف ذرت از روش دی نیترو سالیسیلیک اسید استفاده شد (برنفلد^{۵۵}، 1955). هر واحد آزمایشی شامل 250 میکرولیتر بافر با اسیدپه بهینه، 50 میکرولیتر عصاره آنزیمی روده‌ی میانی حاصل از حشرات پرورش یافته روی هیبریدهای مختلف ذرت و 20 میکرولیتر نشاسته 1 درصد بود. بعد از 30 دقیقه، واکنش در دمای 37 درجه سلسیوس به هر واحد آزمایشی مقدار 50 میکرولیتر معرف رنگی DNSA (3 و 5 دی نیترو سالیسیلیک اسید) اضافه شد. سپس واحد آزمایشی به مدت 10 دقیقه در حمام آبی در دمای 85 تا 95 درجه سلسیوس قرار گرفت. بعد از 5 دقیقه سانتریفیوژ در 16000 (xg) در دمای 4 درجه

⁵⁴ - Elpidina et al

⁵⁵ - Bernfeld

سلسیوس، جذب هر کدام در طول موج 540 نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر تعیین شد. آزمایش در سه تکرار به همراه یک شاهد برای هر تکرار انجام شد.

2-4-5- سنجش غلظت پروتئین موجود در بذور هیبریدهای مختلف ذرت

به منظور سنجش غلظت پروتئین در بذور هیبریدهای مختلف، 200 میلی‌گرم از بذور آرد شده هر هیبرید، همراه با 10 میلی‌لیتر آب مقطر همگن شد. سپس 100 میکرولیتر از مواد همگن شده به 3 میلی‌لیتر از معرف بردافورد اضافه و جذب آن‌ها در طول موج 595 نانومتر تعیین شد (بردفورد^{۵۶}، 1976).

2-4-6- سنجش غلظت نشاسته‌ی موجود در بذور هیبریدهای مختلف ذرت

به منظور سنجش غلظت نشاسته در هیبریدهای مختلف ذرت، 200 میلی‌گرم از بذور آرد شده‌ی هر هیبرید، همراه با 35 میلی‌لیتر آب مقطر همگن شد و تا رسیدن به نقطه جوش در حمام آبی قرار داده شد. سپس 100 میکرولیتر از مواد همگن شده به 2/5 میلی‌لیتر از معرف یدین (0/02 درصد ید و 0/2 درصد یدید پتاسیم) اضافه و جذب آن‌ها را در طول موج 580 نانومتر تعیین شد (برنفلد، 1955).

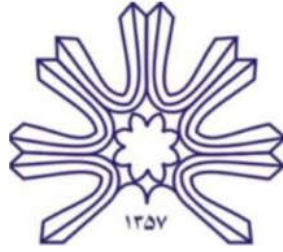
2-5- تجزیه‌ی داده‌ها

نتایج حاصل از اثر هیبریدهای مختلف ذرت روی شاخص‌های تغذیه‌ای و فعالیت آنزیم‌های گوارشی آفت با استفاده از روش تجزیه واریانس یک طرفه و با نرم‌افزار آماری MINITAB 2000 تجزیه شدند. اختلاف‌های آماری بین میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال 5 درصد مورد بررسی قرار گرفت.

به منظور گروه‌بندی هیبریدهای مختلف ذرت در قالب گروه‌های مقاوم، حدواسط و حساس تجزیه کلاستر با استفاده از نرم‌افزار SPSS 23.0 به روش Ward صورت گرفت.

⁵⁶ - Bradford

Family name: Abbaszadeh	Name: Farzad
Title of Thesis: Effect of maize hybrid on biology and digestive physiology of <i>Tribolium castaneum</i> (Herbest) (Coleoptera: Tenebrionidae)	
Supervisors: Dr. Gadir Nouri-Ganbalani -Dr. Bahram Naseri Advisor: Dr. Seyed Ali Asghar Fathi	
Graduate Degree: M.Sc.	Major: Agricultural Entomology
University of Mohaghegh Ardabili	Faculty of Agriculture and Natural Resources
Graduation date: 2018/01/31	Number of pages: 51
<p>Abstract:</p> <p>The confused flour beetle, <i>Tribolium castaneum</i> (Herbest), is a polyphagous pest that attacks a large number of storage products. The effect of nine maize hybrids including SC704, BC678, AS71, SC703, PL472, AR89, KSC703, AS77 and Simax was studied on feeding indices and digestive enzymatic activity of <i>T. castaneum</i> at controlled conditions ($30 \pm 2^{\circ}\text{C}$, $65 \pm 5\%$ RH, and dark conditions). According to the results, the lowest food eaten by the fourth instar larvae, The lowest weight gain of larvae, the lowest value of the efficiency of conversion of ingested food, the lowest value of relative consumption rate and the lowest relative growth rate were observed in hybrids Simax, AS77, Simax, AS77 respectively. Also, the highest food eaten, larval weight gain, relative consumption rate and relative growth rate by fourth-instar larvae were observed in AS77 hybrid and the highest values of the efficiency of conversion of ingested food by adult stages was obtained in Simax hybrid. The lowest food eaten by the <i>T. castaneum</i> adults, the lowest weight gain of adults, the lowest value of the efficiency of conversion of ingested food, the lowest value of relative consumption rate and the lowest of relative growth rate were observed in hybrids SC703, AS77, SC703, AS77 respectively. Also, The highest food eaten by <i>T. castaneum</i> adults in KSC703 hybrid, high weight gain of adults in Simax hybrid, the highest values of the efficiency of conversion of ingested food in SC703 hybrid, the highest values of relative consumption rate in KSC703 hybrid and the highest of relative growth rate in Simax hybrid was obtained.</p> <p>The least proteolytic activity of fourth instar larvae was found in hybrid AR89 (1.6306 ± 0.0077 U/mg) and its highest value was obtained in AS71 hybrid (2.8442 ± 0.013 U/mg). The lowest proteolytic activity of adults was observed in PL472 hybrid (3.1836 ± 0.0076 U/mg) and the highest level was related to insects fed on AS77 hybrid (5.0226 ± 0.0347 U/mg). The lowest level of amylolytic activity of fourth-instar larvae was observed in the BC678 hybrid (0.0092 ± 0.00005 mU/mg) and its highest value was in the AR89 hybrid (0.01775 ± 0.00012 mU/mg). Also, the lowest amylolytic activity of adults was obtained on KSC703 (0.1013 ± 0.00004 mU/mg) and SC703 (0.1027 ± 0.00006 mU/mg) hybrids and its highest value was observed in the SC704 hybrid (0.1315 ± 0.00013 mU/mg).</p> <p>According to the results, the hybrids PL472, AS77 are Unsuitable hybrids for the growth of fourth instar larvae and hybrids BC678 and SC704 for the adults and can be cultivated in areas where this pest has a significant damage to the seeds in the warehouse to reduce the contamination of corn to this pest..</p>	
Keywords: <i>Tribolium castaneum</i> , Biology, Digestive physiology, Maize hybrids.	



University of Mohaghegh Ardabili

Faculty of Agriculture and Natural Resources

Department of Plant Protection

**Thesis submitted in partial fulfilment of the requirements for the degree of
M.Sc. in Agricultural Entomology**

Title:

**Effect of maize hybrid on biology and digestive physiology of *Tribolium
castaneum* (Herbest) (Coleoptera: Tenebrionidae)**

Supervisors:

Gadir Nouri-Ganbalani (Ph.D)

Bahram Naseri (Ph.D)

Advisor:

Seyed Ali Asghar Fathi (PhD.)

By:

Farzad Abbaszadeh

January – 2018