تأثیر واریته‌های مختلف گندم بر فعالیت آنزیم آلفا–آمیلاز روده میانی بید مدیترانه‌ای آرد *Anagasta kuehniella* (Lep.,Pyralidae) و باروری آن

- **محمدعلی ضیائی‌مدبونی***: دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر رفسنجان، صندوق پستی ٥١٨
- **رضا فرشباف‌پورآباد**: دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
- **مجید جعفرلو**: دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۹۱ تاریخ پذیرش:شهریور ۹۱

چکیده

بید مدیترانه‌ای آرد *Anagasta kuehniella* (Lep.,Pyralidae) یکی از آفات انباری مهم است که خسارت زیادی روی محصولات انباری به‌خصوص آرد و دانه‌های غلات ایجاد می‌کند. غلات که غنی از کربوهیدرات‌ها به‌خصوص نشاسته می‌باشند مهم‌ترین منبع غذایی بید مدیترانه‌ای آرد هستند. بنابراین بقای این حشره وابسته به فعالیت آنزیم آلفا–آمیلاز می‌باشد که نشاسته را به قندهای ساده قابل جذب تبدیل می‌کند. در این مطالعه فعالیت آنزیم آلفا–آمیلاز و باروری آفت روی ده رقم گندم مورد بررسی قرار گرفت. میزان باروری در ارقام مختلف دارای تفاوت معنی‌دار بود. همبستگی مثبتی بین میزان باروری و درصد پروتئین واریته‌های مختلف گندم وجود داشت (r= ٠/٤٦١). فعالیت آنزیم آلفا–آمیلاز روده میانی لاروهای سن پنجم در ارقام مختلف گندم و نیز میزان مهارکنندگی عصاره رقم‌های مختلف روی آنزیم آلفا–آمیلاز در هر دو جنس تفاوت معنی‌دار نشان داد. بیش‌تر ارقام گندم فعالیت مهارکنندگی بالایی روی هر دو جنس نر و ماده داشتند. یک رابطه منفی بین فعالیت آنزیم آلفا–آمیلاز و مقدار پروتین ارقام مختلف گندم در هر دو جنس مشاهده شد (r= -٠/٥٨٢ نر، r= -٠/٤٥٣ ماده). نتایج نشان داد هیچ همبستگی بین میزان مهار آنزیم آلفا–آمیلاز جنس ماده و میانگین باروری (r=٠/٠٤٥) در رقم‌های مختلف گندم وجود نداشت.

کلمات کلیدی: آنزیم آلفا–آمیلاز، ارقام گندم، باروری، مهارکنندگی

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: mzm360@gmail.com

مقدمه

بید مدیترانه‌ای آرد(Lep.,Pyralidae) *Anagasta kuehniella* یکی از آفات مهم کارخانه‌های صنعتی تولید آرد در مناطق معتدله می‌باشد (۱۷). لاروهای بید مدیترانه‌ای آرد با تولید تارهای زیاد، تولید فضولات و پوسته‌های لاروی در حین تغذیه از آرد باعث مختل شدن روند تهیه نان می‌شوند (۱۴). برای کنترل این آفت عموماً نیاز به استفاده از حشره‌کش‌های شیمیایی می‌باشد که این حشره‌کش‌ها برای انسان، حیوانات خانگی و محیط سمی هستند. استفاده از حشره‌کش‌های شیمیایی موجب افزایش مقاومت آفت و اثر روی موجودات غیرهدف می‌شود که این مسئله ضرورت استفاده از روش‌های کنترل بی‌خطر از جمله استفاده از ارقام مقاوم گیاهان را دو چندان می‌کند (۸ و۲۲). در حال حاضر استفاده از ارقام مقاوم به‌عنوان جزء جداناپذیر برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات محصولات زراعی و باغی به‌شمار رفته و یک روش امن و جدید برای کنترل آفات است (۱۹). از این رو استفاده از ارقام مقاوم گندم می‌تواند در کاهش خسارت بید آرد موثر باشد. در مطالعات برای بررسی مقاومت رقم‌های گندم نسبت به یک آفت اقدام اندازه‌گیری برخی پارامترهای زیستی آفت از جمله میزان فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز در معده حشره، باروری، وزن لارو، نرخ ظهور حشرات کامل، نرخ ظهور شفیره و نسبت جنسی می‌شود. در مطالعه ما دو پارامتر فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز و باروری مورد بررسی قرار گرفتند.

با شناسایی ارقام گندم حساس به بید آرد می‌توان از آن‌ها در پرورش این آفت جهت تولید انبوه زنبور پارازیتوئید تریکوگراما کمک گرفت. در واقع ارقام گندم حساس به بید آرد می‌توانند به عنوان غذای مناسب در پرورش این آفت استفاده گردند. امروزه گونه‌های تریکوگراما به‌طور وسیع در کنترل حشرات آفت استفاده می‌شوند به‌طوری‌که سالیانه بیش از ۳۲ میلیون هکتار از اراضی کشاورزی با این حشره تیمار می‌شوند (۱۸). در حال حاضر تولید زنبور تریکوگراما در حد وسیع با استفاده از تخم پارازیته شده‌ی شب‌پره‌های آفت محصولات انباری از جمله بید مدیترانه‌ای آرد انجام می‌شود (۶). نوع رژیم غذایی و کیفیت آن نقش مستقیمی در تعداد و کیفیت تخم حشرات آفت دارد و این متعاقباً روی بقای تریکوگراما و دیگر پارازیتوئیدهای تخم که به‌عنوان عوامل کنترل بیولوژیک در محیط رها می‌شوند تأثیر دارد (۱۶). درک نقش رژیم غذایی میزبان روی پذیرش میزبان به‌وسیله تریکوگراما می‌تواند موفقیت برنامه‌های کنترل بیولوژیک را به‌وسیله افزایش قابل پیش‌بینی کارایی پارازیتوئید در یک رهاسازی اشباعی بهبود ببخشد (۲۹).

رقم‌های گندم در یک تنوع وسیع مکانی و کاربردی برای تولید محصولات گسترش یافته‌اند. رقم‌های اصلاح شده برای افزایش مقاومت به بیماری‌ها و حشرات، سازگاری به محیط‌های جدید، افزایش کیفیت مواد غذایی، تغییر عادات رشد و افزایش تولید پرورش داده می‌شوند (۲۰). اگرچه اغلب افزایش محصول هدف اصلاح گیاهان می‌باشد ولی این مهم است که محصول حساسیت بالایی به حشرات و عوامل بیماری‌زا که باعث کاهش عملکرد می‌شوند نداشته باشد. رقم‌های گندم دارای سطوح مختلفی از مقاومت نسبت به آفات انباری می‌باشند (۲۱، ۲، ۲۷، ۲۸، ۲۳ و۱۲). آنزیم آلفا-آمیلاز نقش مهمی در سوخت و ساز کربوهیدرات‌ها در گیاهان و جانوران داشته و بید مدیترانه‌ای آرد شدیداً وابسته به این آنزیم می‌باشد. این آنزیم برای هضم و قابل استفاده نمودن نشاسته وجود آلفا-آمیلازها ضروری است. استفاده از ارقام مقاوم گندم که دارای اثر منفی روی فراسنجه‌های[1] زیستی بید مدیترانه‌ای آرد و نیز اثر مهارکنندگی روی آنزیم آلفا-آمیلاز این حشره می‌باشند می‌تواند در کاهش خسارت این آفت مؤثر واقع شود. در این راستا بررسی آنزیم‌ها، تعیین ویژگی‌ها و شناخت هر چه بیش‌تر آن‌ها، می تواند باعث شناخت فیزیولوژی تغذیه در حشرات شود. چراکه ویژگی‌های یک آنزیم با رژیم غذائی آن حشره ارتباط نزدیکی دارد و تاثیر این آنزیم‌ها بر بیولوژی حشره می‌تواند نقش مهمی را در شناسایی واریته‌های حساس و مقاوم داشته باشد. از این‌رو به‌کار بردن رقم‌های حساس در پرورش آزمایشگاهی این آفت جهت بالا بردن بازدهی پرورش برای تولید عوامل کنترل بیولوژیک می‌تواند مؤثر باشد. رقم‌های مختلف گندم در میزان مهار فعالیت آلفا-آمیلاز و هجوم حشرات یکسان نیستند (۳) این اختلاف‌ها را می‌توان از طریق ارزیابی‌های مختلف از جمله موفقیت تولیدمثل روی رقم‌های مختلف، فعالیت آلفا-آمیلاز حشرات بالغ ظاهر شده نسل F1 و اثر مهار کنندگی آلفا-آمیلاز عصاره هر رقم روی آنزیم آلفا-آمیلاز حشره بدست آورد (۱۱). از آن‌جایی‌که تعیین فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز دستگاه گوارش بید مدیترانه‌ای آرد و نیز بررسی فراسنجه‌های زیستی آن روی رقم‌های مختلف گندم

1. Parameter

امکان شناسایی رقم‌های حساس و مقاوم و به‌دنبال آن کاهش خسارت آفت را میسر می‌سازد، در این بررسی فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز و برخی فراسنجه‌های زیستی بید مدیترانه‌ای آرد روی ده رقم گندم مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

پرورش بید مدیترانه‌ای آرد

برای پرورش بید مدیترانه‌ای آرد از کلنی موجود در گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه تبریز استفاده شده و برای ۳ نسل متوالی اقدام به خالص‌سازی حشره مورد بررسی بر روی آرد معمولی گندم شد. پس از خالص سازی، کلنی موجود به روی آردهای حاصل از ده رقم گندم رایج در منطقه آذربایجان (ارقام سرداری، گوهردشت، تجن، نیک نژاد، شیرودی، آرتا، N-80-19، زاگرس، آذر۲ و رصد) منتقل شد. آردها با آسیاب مجهز به الک ۱mm تهیه شدند. کلنی به مدت سه نسل بر روی این آردها پرورش داده شد و در نسل چهارم اقدام به بررسی میزان باروری آفت و نیز بررسی فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز روده میانی آن گردید. دمای آزمایشگاه در طی دوره پرورش ۲±۲۶°C، رطوبت نسبی برابر ۵ ±۵۰ ٪ و شرایط نوری به صورت ۱۶ ساعت روشنائی و ۸ ساعت تاریکی بود.

تعیین میزان پروتئین رقم‌های گندم

برای اندازه‌گیری میزان پروتئین، ابتدا نمونه‌های گندم به‌خوبی آرد شد. مقدار ۰/۳ گرم از هر رقم درون لوله‌های آزمایش قرار گرفت سپس مقدار ۱/۶۵۰ گرم کاتالیزور (۱/۵ گرم سولفات پتاسیم و ۰/۱۵ گرم سولفات مس) و ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک به آن اضافه شد. لوله‌های آزمایش جهت انجام فرآیند هضم پروتئین به مدت ۳/۵-۳ ساعت درون گرم‌کن[1] که در دمای ۳۹۰°C تنظیم شده بود قرار گرفتند. بعد از آن گرم‌کن خاموش شد و به لوله‌ها اجازه داده شد که در دمای اتاق سرد شده سپس لوله‌های آزمایش درون دستگاه کجلدال[2] قرار گرفتند و درصد پروتئین هر رقم اندازه‌گیری و ثبت شد (۱). آزمایش در سه تکرار انجام گرفت.

بررسی میزان باروری

پس از پرورش ۷ نسل بید مدیترانه‌ای آرد (۳ نسل روی آرد معمولی گندم و ۴ نسل روی آردهای تهیه شده از ده رقم گندم) در نسل ۷ اقدام به بررسی میزان باروری آفت شد. تعداد پنج جفت حشره نر و ماده حداکثر ۲۴ ساعته از هر تکرار جمع‌آوری شده و هر جفت درون قیف تخم‌ریزی قرار گرفت. تخم‌های گذاشته شده هر روز جمع‌آوری و شمارش گردید. این کار تا زمان مرگ آخرین فرد ماده ادامه داشت. آزمایشات در سه تکرار انجام شد.

بررسی فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز

در این بررسی فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز معده میانی بید مدیترانه‌ای آرد پس از ۴ نسل پرورش روی رقم‌های مختلف گندم اندازه‌گیری شد. هم‌چنین اثر مهارکنندگی عصاره‌های ده رقم گندم روی آنزیم آلفا-آمیلاز استخراج شده از معده میانی بید مدیترانه‌ای آرد که روی آرد معمولی گندم پرورش یافته بود مورد بررسی قرار گرفت. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم و اثر مهارکنندگی عصاره‌ها به‌ترتیب تعداد پنج عدد لارو نر و ماده‌ی سن پنج پرورش یافته روی هر رقم گندم و پنج عدد لارو نر و ماده سن پنج که روی آرد معمولی گندم پرورش یافته بودند، تشریح و معده میانی درون میکروتیوب‌های جداگانه قرار گرفت (۲۶). محتوی میکروتیوب‌ها با هموژنایزر[3] یکنواخت شد و روشناور حاصل جداسازی و در آزمایشات آنزیمی به‌کار گرفته شد. آزمایشات در سه تکرار انجام شد.

سنجش فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز

میزان فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز با استفاده از کیت تشخیص آلفا-آمیلاز ساخت شرکت پارس آزمون و توسط دستگاه اتوآنالایزر مدل Alcyon 300 بر اساس روش به‌کار رفته توسط Yazdanian (۲۰۰۶) اندازه‌گیری شد. فعالیت نسبی آنزیم آلفا-آمیلاز به‌صورت واحد بر میلی‌گرم پروتئین (IU/mg protein) محاسبه شده و فعالیت ویژه آن نیز از نسبت فعالیت کلی آنزیم به پروتئین کل به دست آمد.

1. Heater
2 . Kjeldahl
3. Hemogenizer

تعیین غلظت پروتئین در نمونه‌های آنزیمی

برای تعیین غلظت پروتئین کل در نمونه‌های آنزیمی از روش Bradford (۱۹۶۷) استفاده گردید. از غلظت‌های مختلف پروتئین سرم گاوی برای ترسیم منحنی استاندارد استفاده شد و میزان جذب نوری با استفاده از اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد.

تهیه عصاره از رقم‌های مختلف گندم

ابتدا نمونه‌های گندم به‌خوبی آرد شده و سپس به نسبت ۱:۵۰ درون محلول NACl ۰/۴۵ مولار حل شدند. محلول‌ها به‌مدت یک ساعت در دمای اتاق توسط دستگاه لرزاننده (Shaker) یکنواخت شده و بعد از آن به مدت یک ساعت در دمای ۴°C و با سرعت g ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. روشناورهای به‌دست آمده جداسازی و با آب مقطر به نسبت ۱:۲۰ رقیق شدند و به‌عنوان عصاره‌های مهارکننده آنزیم در آزمایشات به‌کار گرفته شدند.

اثر مهارکنندگی عصاره رقم‌های مختلف گندم روی فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز

عصاره‌های به‌دست آمده از ده رقم گندم روی محلول آنزیمی به‌دست آمده از لاروهای پرورش یافته روی آرد معمولی گندم، به نسبت مساوی اثر داده شدند. مقدار ۲۵۰ میکرولیتر عصاره‌ی رقیق شده گندم با ۲۵۰ میکرولیتر محلول آنزیمی مخلوط شده و به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۷°C نگه داشته شد سپس میزان فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز با استفاده از کیت تشخیص فعالیت آلفا-آمیلاز و توسط دستگاه اتوآنالایزر اندازه‌گیری شد و با فعالیت آنزیم شاهد (محلول آنزیمی به تنهایی) مقایسه شد. بدین ترتیب میزان مهارکنندگی هر عصاره بر حسب واحد بر میلی‌گرم پروتئین (IU/mg protein) به‌دست آمد و در مقایسه با شاهد به‌صورت درصد بیان شد.

تجزیه آماری داده‌ها

برای بررسی اثر رقم‌های مختلف روی فراسنجه‌های زیستی و فعالیت و مهار آنزیم آلفا-آمیلاز از طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار استفاده شده و اثر رقم‌ها با هم مقایسه شد ($p<0.05$). وضعیت نرمال بودن داده‌های حاصل، تجزیه واریانس‌ها و مقایسات میانگین به روش تست چند دامنه‌ای دانکن با نرم‌افزار SPSS انجام شد. میزان همبستگی (Correlation) بین پارامترهای مختلف نیز با نرم‌افزار SPSS بررسی شد.

نتایج

تعیین میزان پروتئین رقم‌های گندم

میزان پروتئین در رقم‌های مختلف گندم در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌دار داشت (P<۰/۰۰۰۱، F=۳۶۷/۵۷۱). مقدار پروتئین از ۹/۹۷ ٪ در رقم زاگرس تا ۱۹/۳۵ ٪ در رقم سرداری متغیر بود (جدول۱).

اثر رقم‌های مختلف گندم روی میزان باروری

باروری حشرات ماده تحت تاثیر واریته‌های مختلف گندم قرار داشت. میزان باروری بر روی رقم‌های مختلف گندم در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌دار نشان داد (P<۰/۰۰۰۱، F=۱۷/۷۰۸) (جدول ۱).

جدول ۱- اثر رقم‌های مختلف گندم با درصد پروتئین متفاوت روی میزان باروری بید مدیترانه‌ای آرد

واریته‌های مختلف گندم	سرداری	گوهردشت	تجن	نیک‌نژاد	شیرودی	آرتا	N-80-29	زاگرس	آذر۲	رصد
درصد پروتئین	۹/۹۷± ۰/۱۸ g	۱۷/۸۲± ۰/۳۶ bc	۱۸/۸۷± ۰/۳۵ a	۱۷/۱۵± ۰/۲۹ d	۱۰/۶۴± ۰/۳۵ ef	۱۸/۰۴± ۰/۳۱ b	۱۷/۳۱± ۰/۶۷ cd	۱۹/۳۵± ۰/۳۳ a	۱۰/۴۴± ۰/۲۱ fg	۱۱/۲۵± ۰/۲۲ e
تعداد تخم	۲۷۱/۳۳± ۱۵/۰۵ f	۲۸۳/۲۰± ۲۲/۲۱ ef	۳۰۲/۰۳± ۱۹/۹۷ cd	۳۲۳/۰۷± ۱۷/۶۴ ab	۲۷۷/۲۷± ۲۶/۶۴ f	۲۹۳± ۱۶/۶۲ de	۳۰۶/۷۳± ۱۶/۷۲ cd	۳۱۲/۰۷± ۲۳/۰۵ bc	۳۳۱/۲۷± ۱۷/۳۳ a	۲۹۶/۸۱± ۲۸/۵۰ f

بررسی فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز

اثر رقم‌های مختلف گندم روی فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز لاروهای سن پنجم:

فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز لارو سن پنج جنس نر در رقم‌های مختلف گندم در سطح احتمال ۵ ٪ تفاوت معنی‌دار نشان داد (P<۰/۰۰۲، F=۴/۸۲۳). مقایسه میانگین و روند

تغییرات فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز در رقم‌های مختلف نشان داد که بیش‌ترین فعالیت آنزیم به‌ترتیب مربوط به‌رقم‌های شیرودی و زاگرس بود. رقم‌های نیک‌نژاد و تجن نیز به‌ترتیب کم‌ترین فعالیت آنزیم را نشان دادند. در جنس ماده نیز فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز لارو سن پنج در رقم‌های مختلف گندم در سطح احتمال ۵ ٪ تفاوت معنی‌دار داشت (F=۷/۳۴۵ ،P<۰/۰۰۰۱). بیش‌ترین مقدار فعالیت آنزیم جنس ماده در رقم‌های آرتا و شیرودی و کم‌ترین مقدار در رقم‌های نیک‌نژاد، تجن و رصد مشاهده شد (جدول ۲).

جدول ۲- اثر رقم‌های مختلف گندم روی فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز لاروهای سن پنجم جنس نر و ماده بید مدیترانه‌ای آرد

واریته‌های مختلف گندم	سرداری	گوهردشت	تجن	نیک‌نژاد	شیرودی	آرتا	N-80-29	زاگرس	آذر۲	رصد
فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز	۲۹/۵۹±	۳۰/۳۸±	۱۹/۸۲±	۱۶/۶۸±	۴۹/۶۹±	۳۰/۳۱±	۲۸/۶۸±	۴۳/۲۷±	۳۷/۱۵±	۲۷/۶۵±
لاروهای سن پنجم نر	۶/۹۸ bc	۴/۲۴ bc	۰/۷۶ cd	۲/۱۰ d	۵/۰۲ a	۵/۴۳ bc	۷/۰۶ bc	۱/۱۴ ab	۴/۲۹ ab	۲/۷۹ bc
فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز	۳۶/۶۰±	۳۴/۸۹±	۲۲/۹۷±	۱۸/۸۶±	۷۰/۱۷±	۶۶/۸۷±	۴۴/۶۱±	۳۶/۳۳±	۵۷/۹۳±	۲۳/۷۲±
لاروهای سن پنجم ماده	۷/۲۹ bcd	۸/۹۳ cd	۱/۹۹ de	۲/۲۹ e	۱۲/۱۳ a	۴/۰۹ a	۴/۸۴ abc	۶/۹۹ bcd	۷/۷۷ ab	۴/۰۰ de

اثر عصاره رقم‌های مختلف گندم روی مهار آنزیم آلفا-آمیلاز لاروهای سن پنجم

میزان مهار فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز لاروهای سن پنجم جنس نر در رقم‌های مختلف گندم در سطح احتمال ۵ ٪ معنی‌دار بود (F=۵/۱۹۷ ،P<۰/۰۰۱). عصاره رقم‌های آرتا، نیک‌نژاد، زاگرس و رصد بیشترین میزان مهارکنندگی را داشتند. کم‌ترین میزان مهارکنندگی روی رقم گوهردشت مشاهده شد. در جنس ماده نیز میزان مهار فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز در رقم‌های مختلف گندم در سطح احتمال ۵ ٪ تفاوت معنی‌دار نشان داد (F=۴۵/۰۲۴ ،P<۰/۰۰۱). میزان مهار فعالیت آنزیم در اکثر رقم‌ها به‌جز ارقام N-80-29، گوهردشت و سرداری بالا و مشابه به هم بود. رقم سرداری کم‌ترین میزان مهار آنزیم را داشت (جدول ۳).

جدول ۳- اثر عصاره رقم‌های مختلف گندم روی مهار آنزیم آلفا-آمیلاز لاروهای سن پنجم جنس نر و ماده بید مدیترانه‌ای آرد

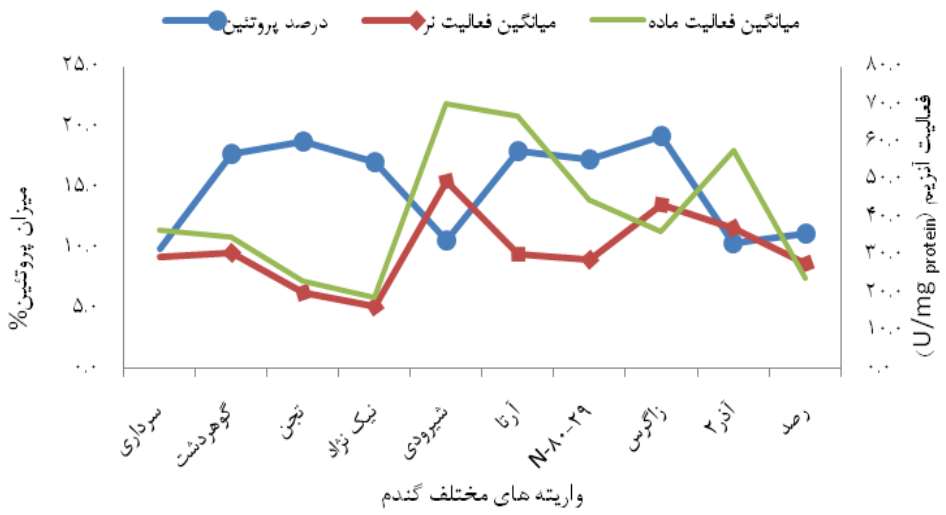
واریته‌های مختلف گندم	سرداری	گوهردشت	تجن	نیک‌نژاد	شیرودی	آرتا	N-80-29	زاگرس	آذر۲	رصد
میزان مهار آنزیم آلفا-آمیلاز	۹۶/۸۴±	۹۵/۹۶±	۹۷/۴۷±	۹۸/۳۶±	۹۸/۳۶±	۹۸/۲۳±	۹۷/۸۵±	۹۷/۲۲±	۹۷/۴۷±	۹۸/۲۳±
لاروهای سن پنجم نر	۰/۳۳ bc	۰/۲۵ c	۰/۱۲ ab	۰/۲۵ a	۰/۳۳ a	۰/۵۴ a	۰/۳۳ ab	۰/۳۳ ab	۰/۲۵ ab	۰/۴۵ a
میزان مهار آنزیم آلفا-آمیلاز	۹۰/۶۵±	۸۸/۷۷±	۹۸/۱۳±	۹۲/۴۲±	۹۷/۴۴±	۹۸/۰۳±	۹۰/۷۴±	۹۷/۵۴±	۹۶/۹۵±	۹۸/۹۱±
لاروهای سن پنجم ماده	۰/۶۴ c	۱/۱۱ d	۰/۲۵ ab	۰/۶۴ c	۰/۲۵ ab	۰/۱۰ ab	/۸۵ c	۰/۲۵ ab	۰/۲۵ b	۰/۴۲ a

بررسی همبستگی بین پارامترهای مختلف

بین میزان باروری و درصد پروتئین رقم‌های مختلف گندم به جز در ارقام نیک‌نژاد و آذر۲ همبستگی مثبت وجود داشت (r= ۰/۴۶۱) (شکل ۱).

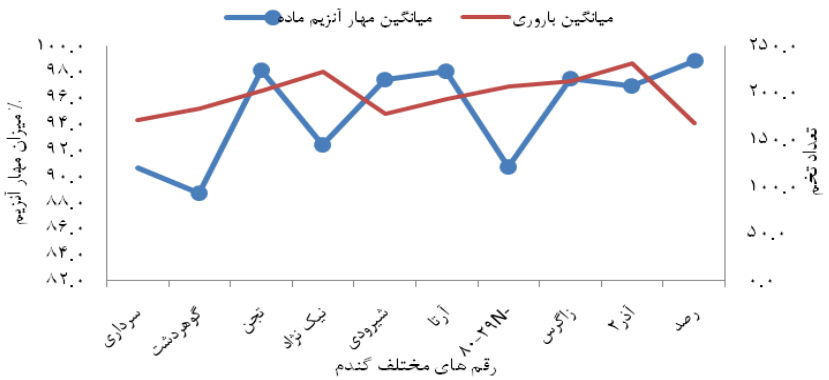
شکل ۱- روند تغییرات میزان پروتئین و میانگین باروی بید مدیترانه‌ای آرد در رقم‌های مختلف گندم

بین درصد پروتئین رقم‌های مختلف گندم و فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز بید مدیترانه‌ای آرد در هر دو جنس نر و ماده یک همبستگی منفی وجود داشت (r= -۰/۵۸۲ نر، r= -۰/۴۵۳ ماده) (شکل۲).



شکل ۲ - روند تغییرات درصد پروتئین و میانگین فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز لارو سن ۵ در جنس نر و ماده

بین میزان مهار آنزیم آلفا- آمیلاز جنس ماده و میانگین باروری در رقم‌های مختلف گندم هیچ همبستگی مشاهده نشد (r= ۰/۰۴۵) (شکل ۳).



شکل ۳- روند تغییرات میانگین مهار آنزیم جنس ماده و میزان باروی در رقم‌های مختلف گندم

بحث

تعیین میزان پروتئین رقم‌های گندم

Watts و Dunkel در سال ۲۰۰۳ میزان پروتئین در ارقام مختلف گندم را به‌منظور بررسی مقاومت هر رقم نسبت به خسارت شپشه گندم *R. dominica* مورد مطالعه قرار دادند. مقدار پروتئین از ۸/۷ ٪ در رقم Penawawa تا ۱۶/۳ ٪ در رقم Redwin متغییر بود. در بررسی دیگر حساسیت هشت رقم گندم نسبت به خسارت *R. dominica* مطالعه شد. میزان پروتئین از ۱۰/۶ ٪ در رقم Coker 916 تا ۱۶/۷ ٪ در رقم Truimph 64 متغییر بود (۳۰).

اثر رقم‌های مختلف گندم روی میزان باروری

در مطالعه صورت گرفته توسط Cinco-Moroyoqui و همکاران در سال ۲۰۰۶، میزان باروری شپشه گندم *R. dominica* روی ده رقم گندم بررسی شد. هنگامی‌که میزان پروتئین خورده شده توسط حشره از طریق تغذیه از رقم‌های با درصد پروتئین بیشتر افزایش یافت به دنبال آن تولیدمثل حشره نیز افزایش یافت. تغذیه از رقم‌های با درصد پروتئین پایین باروری کم‌تری را به‌دنبال داشت. Fields در سال ۲۰۰۶ نسبت‌های مختلف از آرد نخودفرنگی غنی از پروتئن را با آرد گندم مخلوط و اثر آن را روی نشو و نمای سوسک‌های انباری *Sitophilus oryzae*، *S. zeamais*، *S. granarius* و *Tribolium castaneum* و *R. dominica* مطالعه کرد. تولید نتاج با افزایش مقدار آرد نخودفرنگی غنی از پروتئین افزایش پیدا کرد. Hossain و همکاران در سال ۲۰۰۷ گزارش کردند تولید نتاج *S. oryzae* با تغذیه از ژنوتیپ‌های مختلف ذرت با درصد پروتئین بالا افزایش پیدا کرد. تولیدمثل به‌ویژه عمل ویتلوس‌سازی[1] در حشرات بستگی به میزان پروتئین در رژیم غذایی آن‌ها دارد. رژیم‌های غذایی دارای پروتئین بالا باعث افزایش میزان باروری حشرات می‌شود (۹). در مطالعات ما نیز همبستگی مثبتی بین میزان باروری و درصدپروتئین واریته‌های مختلف گندم به‌جز در ارقام نیک‌نژاد و آذر۲ وجود داشت (شکل ۱). در رقم آذر ۲ شاید بتوان گفت به‌دلیل این‌که فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز آفت در این رقم به‌دلایل ناشناخته در بالاترین سطح خود نسبت به سایر رقم‌ها قرار دارد در نتیجه آفت تغذیه مناسب‌تری داشته و به‌دنبال آن باروری نیز با وجود میزان پروتئین پایین در بالاترین سطح خود قرار گرفته است. در رقم نیک‌نژاد میزان پروتئین در سطح بالایی قرار دارد و به‌دنبال آن باروری نیز بالاست ولی روند همبستگی به‌خوبی حفظ نشده است که این را می‌توان ناشی از خطا در آزمایش محسوب کرد.

بررسی فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز

اثر رقم‌های مختلف گندم روی فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز لاروهای سن پنجم

Baker در سال ۱۹۸۸ گزارش کرد که *S. zeamais* و *S. oryzae* وقتی روی گندم تغذیه کردند در مقایسه با جو حداقل فعالیت آلفا-آمیلاز را داشتند. Wool و همکاران در سال ۱۹۸۶ نشان دادند که محتوی دانه‌های گندم می‌تواند فعالیت آلفا-آمیلاز حشرات تغذیه کننده را تحت تأثیر قرار دهد. در بررسی انجام شده توسط Cinco-Moroyoqui و همکاران در

1. Vitellogenesis

سال ۲۰۰۶، فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز شپشه گندم *R. dominica* روی ده رقم گندم بررسی شد. فعالیت بالای آنزیم در جمعیت‌های با تراکم کم و عکس آن در جمعیت‌های با تراکم بالا مشاهده شد. زمانی‌که میزان پروتئین خورده شده توسط حشره از طریق تغذیه از رقم‌های با درصد پروتئین بالاتر افزایش یافت به‌دنبال آن تولیدمثل حشره نیز افزایش یافت اما مصرف پروتئین باسطح فعالیت آنزیم نسبت عکس داشت. نتایج حاصل از مطالعات اخیر نیز رابطه بین میزان پروتئین دانه‌های گندم و فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز بید مدیترانه‌ای آرد را در اکثر رقم‌ها تأیید می‌کند (شکل ۲).

اثر عصاره رقم‌های مختلف گندم روی مهار آنزیم آلفا-آمیلاز لاروهای سن پنجم

در یک مطالعه اثر مهارکنندگی عصاره‌های آلبومین گندم روی فعالیت آمیلاز *R. dominica* مورد مطالعه قرار گرفت. عصاره‌های مذکور به‌میزان قابل توجهی فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز را مهار کردند (۱۰). فعالیت آلفا-آمیلاز در حشراتی که از انواع غلات تغذیه می‌کنند بالا بوده و حساسیت زیادی به مهار توسط عصاره‌های آلبومین گندم دارند (۲۵). در بررسی دیگری اثر مهارکنندگی تعدادی از ترکیبات از جمله مهارکننده‌های گندم روی آلفا-آمیلاز *R. dominica* مورد مطالعه قرار گرفت و مشاهده شد غلظت‌های مختلف مهارکننده‌های فعالیت آلفا-آمیلاز گندم که به رژیم غذایی این حشره اضافه شدند در کاهش رشد آن مؤثر بودند (۲۴).

Yetter و همکاران در سال ۱۹۷۹ رابطه منفی معنی‌داری بین تعداد نتاج شپشه گندم و درصد مهارکنندگی آلفا-آمیلاز چندین رقم گندم گزارش کردند. Cinco-Moroyoqui و همکاران در سال ۲۰۰۶ مشاهده کردند فعالیت آلفا-آمیلاز *R. dominica* تحت تأثیر مهارکننده‌های مستخرج از رقم‌های مختلف گندم قرار می‌گیرد. آن‌ها نشان دادند رابطه منفی بین میزان مهارکنندگی عصاره رقم‌های مختلف گندم و تولید نتاج وجود دارد. هم‌چنین مشخص شد جمعیت‌هایی که فعالیت آلفا-آمیلاز بالاتری دارند بیش‌تر به‌وسیله عصاره‌های گندم مهار می‌شوند. در مطالعه‌ای اثر مهارکننده‌های آلفا-آمیلاز ۳۰ رقم گندم روی تولید نتاج و نرخ ظهور شپشه برنج، *S. oryzae* بررسی شد که هیچ همبستگی بین مهارکنندگی با تولید نتاج و نرخ ظهور بین شپشه‌های پرورش یافته روی ارقام گندم که سطوح مهارکنندگی نسبتاً پایین، متوسط و بالایی داشتند وجود نداشت اما یک همبستگی مثبت بین میزان مهارکنندگی و میانگین تعداد روزهای ظهور حشرات بالغ دیده شد (۵). بر اساس نتایج به‌دست آمده از آزمایشات حاضر، هیچ همبستگی بین میزان مهار آنزیم آلفا-آمیلاز جنس ماده و میانگین باروری در رقم‌های مختلف گندم مشاهده نشد (شکل ۳).

با توجه به نتایج حاصل از بررسی اثر رقم‌های مختلف گندم روی فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز روده میانی (در محیط زنده) و میزان مهارکنندگی عصاره رقم‌های مختلف روی آنزیم آلفا-آمیلاز روده میانی در هر دو جنس نر و ماده (در محیط غیرزنده) و نیز میزان باروری حشرات کامل بید آرد، می‌توان گفت که رقم‌های مختلف گندم حساسیت متفاوتی در برابر خسارت این آفت دارند. به‌طوری که در ارقامی که میزان پروتئین دانه بالا، باروری آفت پایین، میزان فعالیت آنزیم آلفا- آمیلاز آفت پایین و میزان مهارکنندگی عصاره روی آنزیم آلفا-آمیلاز آفت بالاتراست، پتانسیل مقاومت بالاتری نسبت به خسارت آفت دارند و بر عکس در ارقامی که میزان پروتئین دانه پایین، باروری آفت بالا، میزان فعالیت آنزیم آلفا- آمیلاز آفت بالا و میزان مهارکنندگی عصاره روی آنزیم آلفا-آمیلاز آفت پایین‌تر است، ارقام حساس‌تری هستند. در آزمایشات اخیر شاید نتوان براساس میزان مهار آنزیم آلفا- آمیلاز، مقاوم یا حساس بودن ارقام را تعیین کرد ولی براساس میزان پروتئین دانه‌های گندم، میزان باروی آفت و ارتباط این دو با فعالیت آنزیم آلفا- آمیلاز، ارقام از حساس به مقاوم عبارت خواهند بود از: آذر۲، آرتا، شیرودی، تجن، N-80-29، زاگرس، گوهردشت، رصد، سرداری و نیک‌نژاد.

منابع

1. **American Association of Cereal Chemists. 2000.** Approved methods of the American Association of Cereal Chemists, 10th ed. American Association of CerealChemists, St. Paul, MN.
2. **Amos, T.G.; Semple, R.L. and Williams, P., 1986.** Multiplication of some stored grain insects on varieties of wheat. Gen. Appl. Entomol, 18: 48–52.
3. **Applebaum, S.W. and Konijn, A.M., 1967.** Factors Affecting the Development of *Tribolium castaneum* (Herbst) on Wheat. Journal of Stored Products Research, 2: 323-329.
4. **Baker, J.E., 1988.** Dietary Modulation of

Alpha-Amylase Activity in Eight Geographical Strains of *Sitophilus orizae* and *Sitophilus zeamais.* Entomologia Experimentalis et Applicata, 46: 47-54.

5. **Baker, J.E.; Woo, S.M.; Throne, J.E. and Finney, P.L., 1991.** Correlation of α-Amylase Inhibitor Content in Eastern Soft Wheats with Development Parameters of the Rice Weevil (Coleoptera: Curculionidae). Environmental Entomology, 20: 53-60.
6. **Bernardi, E.B.; Haddad, M.L. and Parra, J.R.P., 2000.** Comparison of artificial diets for rearing *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865) (Lep: Pyralidae) for Trichogramma mass production. Rev Bras Biol, 60:45–52.
7. **Bradford, M.M., 1976.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72:248–254.
8. **Carlini, C.R. and Grossi-de-Sá, M.F., 2002.** Plant toxic proteins with insecticidal properties. A review on their potentialities as bioinsecticides Toxicon, 40: 1515-1539.
9. **Chapman, R.F., 2009.** The Insects Structure and Function. 4th edition. Cambridge University Press, P. 770.
10. **Cinco-Moroyoqui, F.J.; Diaz-Malvaez, F.I.; Alanis-Villa, A.; Barron-Hoyos, J.M.; Cardenas-Lopez, J.L.; Cortez-Rocha, M.O. and Wong-Corral, F.J., 2008.** Isolation and Partial Characterization of Three Isoamylases of *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae). Comparative Biochemistry and Physiology Part B, 150: 153–160.
11. **Cinco-Moroyoqui, F.J.; Rosas-Burgos, E.C.; Borboa-Flores, J. and Cortez-Rocha, M.O., 2006.** α-Amylase Activity of *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) Reared on Several Wheat Varieties and Its Inhibition with Kernel Extracts. Journal of Economic Entomolology, 99(6): 2146-2150.
12. **Cortez-Rocha, M.O.; Wong-Corral, F.J.; Borboa-Flores, J.; Sanchez-Marinez, R.I. and Cinco-Moroyoqui, F.J., 1993.** A study on the susceptibility of wheat varieties to *Rhyzopertha dominica.* Southwest. Entomol, 18: 287–291.
13. **Fields, P.G., 2006.** Effect of *Pisum sativum* Fractions on the Mortality and Progeny Production of Nine Stored-Grain Beetles. Journal of Stored Products Research, 42: 86–96.
14. **Hansen, L.S. and Jensen, K.M.V., 2002.** Effect of temperature on parasitism and host-feeding of *Trichogramma turkestanica* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). J Econ Entomol, 95(1):50–56.
15. **Hossain, F.; Boddupalli, P.M.; Sharma, R.K.; Kumar, P. and Singh, B.B., 2007.** Evaluation of Quality Protein Maize Genotypes for Resistance to Stored Grain Weevil *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). International Journal of Tropical Insect Science, 27(2): 114–121.
16. **Hunter, M.D., 2003.** Effects of plant quality on the population ecology of parasitoids. Agric For Entomol, 5:1–8.
17. **Jacob, T.A. and Cox, P.D., 1977.** The influence of temperature and humidity on the lifecycle of *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). Journal of Stored Products Research, 13: 107–118.
18. **Li, L.Y., 1994.** Worldwide use of *Trichogramma sp.* for biological control on different crops: a survey. In: Wajnberg E, Hassan SA (eds) Biological control with egg parasitoids. CABI, Wallingford, pp 37–44.
19. **Lovei, G.L. and Arpaia, S., 2005.** The impact of transgenic plants on natural enemies a critical review of laboratory studies. The Netherlands Entomological Society Entomologia Experimentalis et Applicata, 114: 1-14.
20. **Martin, J.H.; Leonard, W.H. and Stamp, D.L., 1976.** Principles of field crop production. 3rd ed. Macmillan, New York. McGaughey, W. H., R. D. Speirs, and C. R. Martin.
21. **McGaughey, W.H.; Speirs, R.D. and Martin, C.R., 1990.** Susceptibility of classes of wheat grown in the UnitedStates to stored-grain insects. J. Econ. Entomol, 83: 1122–1127.
22. **Montesdeoca, M.; Lobo, M.G.; Casañas, N.; Carnero, A.; Castañera, P. and Ortego, F.; 2005.** Partial characterization of the proteolytic enzymes in the gut of the banana weevil, Cosmopolites sordidus and effects of soybean Kunitz trypsin inhibitor on larval performance. Entomologia Experimentalis et Applicata, 116: 227–236.
23. **Phadke, K.G. and Bhatia, S.K., 1975.** Rate of increase of Sitophilus oryzae and *Rhyzopertha dominica* in different varieties of wheat. Indian J. Entomol, 37: 292–302.
24. **Priya, S.; Kaur, N. and Gupta, A.K., 2010.** Purification, Characterization and Inhibition Studies of α-Amylase of *Rhyzopertha*

dominica. Pesticide Biochemistry and Physiology, 98: 231–237.

25. **Silano, V.; Furia, M.; Gianfreda, L.; Maori, A.; Palescandolo, R.; Rab, A.; Scarde, V.; Stella, V. and Valfre, F., 1975.** Inhibition of Alpha-Amylase from Different Origins by Albumins from the Wheat Kernel. Biochimica et Biophysica Acta, 391: 170-178.
26. **Silva, L.B.; Silva, W.; Macedo, M.L.R. and Peres, M.T.L.P., 2009.** Effects of Croton urucurana Extracts and Crude Resin on Anagasta kuehniella (Lepidoptera: Pyralidae). Brazilian Archives of Biology and Technology, Vol.52(3) 653-664.
27. **Singh, H.N. and Mathew, G., 1973.** Comparative resistance of different wheat varieties (to rice weevil *Sitophilus oryzae*) during storage. Mys. J. Agric. Sci., 7: 86–89.
28. **Sinha, R.N.; Demianyk, C.J. and McKenzie, R.I.H., 1988.** Vulnerability of common wheat varieties to major storedproduct beetles. Can. J. Plant Sci, 68: 337–343.
29. **Song, S.J.; Bourchier, R.S. and Smith, S.M., 1997.** Effect of host diet on acceptance of eastern spruce budworm eggs by *Trichogramma minutum*. Entomol Exp Appl, 84:41–47.
30. **Toews, M.D.; Cuperus, G.W. and Phillips, T.W., 2000.** Susceptibility of Eight U.S. Wheat Varieties to Infestation by *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera:Bostrichidae). Environmental of Entomology, 29(2): 250-255.
31. **Watts, V.M. and Dunkel, F.V., 2003.** Postharvest Resistance in Hard Spring and Winter Wheat Varieties of the Northern Great Plains to the Lesser Grain Borer (Coleoptera: Bostrichidae). Journal of Economic Entomolology, 96(1): 220-230.
32. **Wool, D.; Namir, Z. and Bergeson, O., 1986.** Dietary Regulation of Amylase Activity Levels in Flour Beetles (Coleoptera: Tenebrionidae). Annals of the Entomological Society of America, 79: 407-413.
33. **Yetter, M.A.; Saunders, R.M. and Boles, H.P., 1979.** Alpha-Amylase Inhibitors from Wheat Kernel as Factors in Resistance to Postharvest Insect. Cereal Chemistry, 56: 243-244.
34. **Yazdanian, M., 2006.** Study of Some Properties of α-amylase Enzyme in Salivary Glands of *Graphosoma lineatum* (Hem, scutelleridae). Ph. D. Dissertation. University of Tabriz, pp. 186.

Effect of different wheat varieties on α-amylase enzyme activity in midgut of Mediterranean flour moth *Anagasta kuehniella* (Lep. Pyralidae) and its fecundity

- **Mohammad Ali Ziaei***: Faculty of Agriculture, Vali-asr University of Rafsanjan, P.O.Box:518 Rafsanjan, Iran
- **Reza Farshbaf pourabad:** Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
- **Majid Jafarlu:** Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

Received: May 2012 Accepted: September 2012

Key Words: Alpha- amylase enzyme, Wheat cultivar, Fecundity, Inhibitory.

Abstract

Mediterranean flour moth *Anagasta kuehniella* (Lep. Pyralidae) is a major pest of stored products which causes a lot of damage on stored products, especially flour and grains. Cereals which are rich in carbohydrates especially starch are the most important food source for flour moth. Thus the survival of the insect is dependent on alpha-amylase enzyme activity that converts starch to simply-absorbed sugars. In this study alpha-amylase enzyme activity and pest fecundity were examined on ten wheat varieties. Fecundity rates were significant in different varieties. There was positive correlation between Fecundity rates and protein rates in different wheat varieties (r= 0.461). The activity of alpha-amylase enzyme in midgut of fifth instars larvae on different wheat varieties and inhibitory rate of different wheat extracts on the alpha-amylase enzyme activity in both sexes was significantly different. Most of wheat varieties had high inhibitory activity in both sexes. A negative correlation observed between alpha-amylase enzyme activity and Protein amount of different wheat varieties (r=-0.582 male, r=-0.453 female). The results showed that there was no correlation between inhibition of alpha-amylase activity and the fecundity average of females (r= 0.045) in different varieties of wheat.

*Corresponding author's email: mzm360@gmail.com