دانشکده کشاورزی

گروه گیاه‌پزشکی

پایانامه

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد حشره شناسی کشاورزی

عنوان

تاثیر واریته‌های مختلف گندم بر فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز دستگاه گوارش بید مدیترانه‌ای آرد (*Anagasta kuehniella* (Lep.,Pyralidae و برخی فراسنجه‌های زیستی آن

استاد راهنما

دکتر رضا فرشباف پورآباد

استاد مشاور

دکتر داود محمدی

پژوهشگر

محمدعلی ضیائی مدبونی

شهریور ماه ۹۰

تقدیر و تشکر

سپاس بیکران بایسته ی آن ایزد دانایی است که چراغ دانش را در اندیشه انسان فروزان می دارد تا در پرتو آن، هستی را از دورترین مرزهای کهکشان تا پیچاپیچ هزار توی یاخته ها بکاود و رازهای آن بگشاید و بدین گونه خود را از بردگی، جهل و خرافات برهاند و به آزادی و توانایی و بهروزی دست یابد.

بوسه می زنم بر دستان خداوندگاران مهر و مهربانی، پدر و مادر عزیزم و بعد از خدا ستایش می کنم وجود مقدسشان را به پاس عاطفه سرشار و گرمای امید بخش، که در این سردترین روزگاران بهترین پشتیبان من بوده است. خواهران و برادران عزیزم سپاس مرا برای مهر و دوستی همیشگی تان پذیرا باشید.

از صمیم قلب سپاس و تشکر خالصانه ی خود را از استاد راهنمای گرامیم جناب آقای دکتر رضا فرشباف پورآباد که در تمامی مراحل پایان نامه، اینجانب را از کمک های بی دریغ خویش بهرمند نمودند ابراز می کنم.

استاد محترم جناب آقای دکتر داود محمدی را صمیمانه سپاسگزارم که افتخار بهره یابی از نظرات ایشان را به عنوان استاد مشاور داشته ام.

همچنین کمال امتنان خویش را تقدیم استاد فرهیخته جناب آقای دکتر کریم حداد ایرانی نژاد می دارم، که زحمت بازخوانی و داوری پایانامه را تقبل نمودند.

از مدیریت سابق و فعلی گروه گیاهپزشکی آقایان دکتر سخندان و دکتر نیکنام که در فراهم نمودن امکانات اجرایی پایانامه و برگزاری جلسه دفاع یاریم نمودند نهایت سپاس را دارم.

از اساتید بزرگوار آقایان دکتر حداد ایرانی نژاد، دکتر حجازی، دکتر ایرانی پور، دکتر خاقانی نیا و دکتر نیکنام که افتخار شاگردیشان را در این مقطع داشته‌ام کمال تشکر و قدردانی را دارم. از سایر اساتید و کارکنان گروه گیاه پزشکی که همواره از نظرات و کمک هایشان بهره مند شده‌ام متشکرم.

از مدیر گروه محترم علوم دامی جناب آقای دکتر جانمحمدی و کارشناس محترم آزمایشگاه تغذیه دام جناب آقای مهندس سکوتی که خالصانه در پیشبرد پایان نامه یاری ام نموده اند، کمال تشکر را دارم.

در پایان از همراهی و مساعدت دوستان عزیزم و تمام کسانی که در طی مدت تحصیل محبت و مهرشان در گوشه گوشه ی ذهن و قلبم جای دارد، بینهایت سپاسگذارم.

محمدعلی ضیائی مدبونی شهریور ۹۰

نام خانوادگی: ضیائی مدبونی **نام:** محمدعلی

عنوان پایان‌نامه: تاثیر واریته‌های مختلف گندم بر فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز دستگاه گوارش بید مدیترانه‌ای آرد *Anagasta kuehniella* (Lep.,Pyralidae) و برخی فراسنجه‌های زیستی آن

استاد راهنما: دکتر رضا فرشباف پورآباد

استاد مشاور: دکتر داود محمدی

مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد **رشته:** حشره‌شناسی کشاورزی **گرایش:**

دانشگاه: تبریز **دانشکده:** کشاورزی **تاریخ فارغ التحصیلی:** شهریور ۱۳۹۰ **تعداد صفحه:** ۷۶

کلید واژه ها:

Anagasta kuehniella، آلفا-آمیلاز، مهارکننده، گندم، فراسنجه زیستی، عصاره

چکیده:

شب‌پره مدیترانه‌ای آرد با نام علمی *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) یکی از آفات انباری دارای اهمیت اقتصادی است که خسارت زیادی روی محصولات انباری به‌خصوص آرد و دانه‌های غلات ایجاد می-کند. غلات که غنی از کربوهیدرات‌ها به‌خصوص نشاسته می‌باشند مهمترین منبع غذایی بید آرد هستند. بنابراین بقای این حشره وابسته به فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز دستگاه گوارش آن می‌باشد که نشاسته را به قندهای ساده قابل جذب تبدیل می‌کند. در این مطالعه میزان فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز و برخی فراسنجه‌های زیستی آفت تحت تاثیر آرد تهیه شده از ده رقم گندم مورد بررسی، قرار گرفت. فراسنجه‌های بررسی شده شامل وزن لارو، نرخ ظهور شفیره، نرخ ظهور حشرات کامل، نسبت جنسی و باروری بودند. وزن لارو، نرخ ظهور شفیره و نسبت جنسی در رقم‌های مختلف در سطح احتمال ۵ ٪ تفاوت معنی‌دار نداشتند. فراسنجه‌های نرخ ظهور حشرات کامل و باروری روی رقم‌های مختلف در سطح احتمال ۵ ٪ تفاوت معنی‌دار داشته بطوری‌که بیشترین و کمترین نرخ ظهور بترتیب در رقم‌های سرداری و شیرودی و بیشترین و کمترین میزان باروری در ارقام آذر۲ و رصد مشاهده شد. نرخ ظهور حشرات کامل در رقم‌های با میزان پروتئین بالا کاهش و باروی در این رقم‌ها افزایش یافت. فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز در روده میانی لارو سن ۵ در رقم‌های مختلف گندم و نیز میزان مهارکنندگی عصاره رقم‌های مختلف روی آنزیم آلفا-آمیلاز در هر دو جنس نر و ماده در

سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌دار نشان داد. بیشترین و کمترین فعالیت آنزیم در هر دو جنس نر ماده بترتیب در رقم‌های شیرودی و نیک‌نژاد مشاهده شد. بیشتر رقم‌های گندم دارای فعالیت مهارکنندگی بالایی در هر دو جنس نر و ماده بودند. یک رابطه منفی بین فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز و مقدار پروتین رقم‌های مختلف و نیز فعالیت آنزیم و وزن لارو هر دو جنس نر و ماده مشاهده شد. نتایج نشان داد هیچ همبستگی بین میزان مهار آنزیم آلفا-آمیلاز جنس ماده و میانگین باروری (r= ۰/۰۴۵) در رقم‌های مختلف گندم وجود نداشت. همبستگی بین نرخ ظهور حشرات کامل و میزان مهار آنزیم آلفا-آمیلاز در هر دو جنس نر و ماده منفی و خیلی ضعیف (r= -۰/۲۶۱ نر و r= -۰/۱۹۱ ماده) بود.

فهرست مطالب

مقدمه ۱

فصل اول: بررسی منابع

۱-۱- معرفی و رده بندی بید آرد..... ۳

۱-۲- ریخت شناسی و فیزیولوژی دستگاه گوارش بید آرد..... ۵

۱-۳- آلفا-آمیلازها ۶

۱-۴- تاثیر رژیم‌های غذایی بر فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز و پارامترهای زیستی حشرات..... ۹

فصل دوم: مواد و روش‌ها

۲-۱- تشکیل کلنی و شرایط آزمایشگاهی پرورش بید آرد..... ۲۴

۲-۲- طریقه پرورش بید آرد..... ۲۴

۲-۳- طریقه جمع‌آوری حشرات کامل بید آرد از ظروف پرورش..... ۲۶

۲-۴- تفکیک سنین لاروی..... ۲۸

۲-۵- تعیین میزان پروتئین رقم‌های گندم..... ۲۸

۲-۶- بررسی فراسنجه‌های زیستی..... ۳۰

۲-۶-۱ تعیین وزن لاروی..... ۳۱

۲-۶-۲- تعیین نرخ ظهور شفیره..... ۳۲

۲-۶-۳- تعیین میزان باروری..... ۲۹

فهرست مطالب

۲-۶-۴- تعیین نرخ ظهور حشرات کامل و نسبت جنسی..... ۳۳

۲-۷- بررسی فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز..... ۳۴

۲-۷-۱- طریقه تشریح لاروهای بید آرد..... ۳۴

۲-۷-۲- آماده کردن نمونه های آنزیمی..... ۳۵

۲-۷-۳- سنجش فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز بید مدیترانه ای آرد روی رقم‌های مختلف گندم ۳۶

۲-۷-۴- تعیین غلظت پروتئین در نمونه‌های آنزیمی (پروتئین کل)..... ۳۸

۲-۷-۵- تهیه عصاره از رقم‌های مختلف گندم..... ۳۸

۲-۷-۶- اثر مهارکنندگی عصاره رقم‌های مختلف گندم روی فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز..... ۳۹

۲-۸- طرح آزمایشی مورد استفاده و تجزیه آماری داده‌ها ۳۹

فصل سوم: نتایج و بحث

۳-۱- تعیین میزان پروتئین رقم‌های گندم..... ۴۰

۳-۲- بررسی اثر رقم‌های مختلف گندم بر روی وزن لارو سن ۵ بید آرد..... ۴۱

۳-۳- بررسی اثر رقم‌های مختلف گندم بر نرخ ظهور شفیره..... ۴۶

۳-۴- بررسی اثر رقم‌های مختلف گندم روی میزان باروری..... ۴۹

۳-۵- بررسی اثر رقم‌های مختلف گندم روی نرخ ظهور حشرات کامل..... ۵۳

فهرست مطالب

۳-۶- بررسی اثر رقم‌های مختلف گندم روی نسبت جنسی حشرات کامل..... ۵۶

۳-۷- بررسی اثر رقم‌های مختلف گندم روی فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز لارو سن **۵**..... ۵۸

۳-۸- بررسی اثر عصاره رقم‌های مختلف گندم روی مهار آنزیم آلفا-آمیلاز لارو سن ۵..... ۶۲

۳-۹- نتیجه‌گیری و پیشنهادها ۶۸

۳-۹-۱- نتیجه گیری ۶۸

۳-۹-۲- پیشنهادها ۶۹

منابع مورد استفاده ۷۰

مقدمه

مقدمه

شب پره مدیترانه‌ای آرد (*Anagasta kuehniella* Zeller, 1879) با ایجاد تارهای زیاد، تولید فضولات و پوسته‌های لاروی در حین تغذیه از آرد باعث مختل شدن روند تهیه نان می‌شود. این گونه از آفات انباری مهم و دارای اهمیت اقتصادی در ایران و بیشتر مناطق دنیا می‌باشد که خصوصاً در کشورهای گرمسیری بیشترین فعالیت را داشته و اغلب در کارخانه‌های تولید آرد، سیلوهای نگهداری غلات، کارخانه‌های خوراک دام و طیور، نانوائی‌ها و منازل به چشم می‌خورد. معمول‌ترین راهکارهای پیشگیری و مبارزه که در مورد این آفت توصیه می‌شود، جلوگیری از آلوده‌شدن آرد در سطوح کوچک و استفاده از مواد شیمیائی مختلف و ضد عفونی انبار در سطوح بزرگ می‌باشد که یک روش کنترل ناکافی است. در میان روش‌های مختلف مدیریت تلفیقی آفات، استفاده از ارقام مقاوم از جمله موثرترین روش‌های کنترل آفات می‌باشد. که هم به تنهایی و هم در تلفیق با سایر روش‌ها از جمله کنترل شیمیایی، کنترل بیولوژیک و عملیات به‌زراعی، بسیار کارآمد می‌باشد. در حال حاضر استفاده از ارقام مقاوم به عنوان جز جداناپذیر برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات محصولات زراعی و باغی بشمار رفته و یک روش امن و جدید برای کنترل آفات است (لووی و آرپایا، ۲۰۰۵). آنزیم آلفا-آمیلاز نقش مهمی در سوخت و ساز کربوهیدرات‌ها در گیاهان و جانوران داشته و بید آرد شدیداً وابسته به این آنزیم می‌باشد چرا که برای هضم و قابل استفاده نمودن نشاسته وجود آلفا-آمیلازها ضروری است. استفاده از ارقام مقاوم گندم که دارای اثر منفی روی فراسنجه‌های زیستی بید آرد و نیز اثر مهارکنندگی روی آنزیم آلفا-آمیلاز این حشره می‌باشند می‌تواند در کاهش خسارت این آفت موثر واقع شود. در این راستا بررسی آنزیم‌ها، تعیین ویژگی‌های آن‌ها و شناخت هر چه بیشترشان ما را در شناخت فیزیولوژی تغذیه در حشرات یاری خواهد کرد 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. بید آرد برای پرورش برخی عوامل کنترل بیولوژیک همچون زنبورهای Trichogrammatidae، Braconidae، مگس‌های Tachinidae و شکارگرهائی همچون Anthocoridae، Miridae، Nabidae از ناجوربالان، Coccinellidae و Cantharidae از سخت بالپوشان و خانواده Syrphidae از دوبالان، از میزبان‌های مهم و مورد توجه می‌باشد که از تخم‌ها و لاروهای آن برای پرورش انبوه این پارازیتوئیدها و شکارگرها استفاده می‌شود (دومال نقل از یزدانیان، ۱۳۷۹). از این‌رو بکار بردن رقم‌های حساس در پرورش آزمایشگاهی این آفت جهت بالا بردن بازدهی پرورش برای تولید عوامل کنترل بیولوژیک می‌تواند موثر باشد. رقم‌های مختلف گندم در میزان مهار فعالیت آلفا-آمیلاز و هجوم حشرات اختلاف دارند (آپلبام و کونیجان ۱۹۶۷)، این اختلاف ها را می‌توان از طریق ارزیابی‌های مختلف از جمله موفقیت تولید مثلی روی رقم‌های مختلف، فعالیت آلفا-آمیلاز حشرات بالغ ظاهر شده‌ی نسل F1 و اثر مهار کنندگی آلفا-آمیلاز عصاره‌ی هر رقم روی آنزیم آلفا-آمیلاز حشره بدست آورد (سینکو- مورویوکی و همکاران، ۲۰۰۶). از آنجاییکه تعیین فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز دستگاه گوارش بید آرد و نیز بررسی فراسنجه‌های زیستی آن روی رقم‌های مختلف گندم امکان شناسایی رقم‌های حساس و مقاوم و به دنبال آن کاهش خسارت آفت را به ما می‌دهد، در این بررسی فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز و برخی فراسنجه‌های زیستی بید آرد روی ده رقم گندم مورد ارزیابی قرار گرفت.

بررسی منابع

۱-۱- معرفی و رده بندی بید آرد

شب‌پره‌ی مدیترانه‌ای آرد[1] با نام علمی *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) یک آفت انباری مهم در ایران و بیشتر مناطق دنیا است. تعداد نسل سالیانه این آفت بر حسب شرایط محیطی بسیار متفاوت است. در انبارهای نسبتاً گرم، حشره در تمام فصول بدون وقفه به زندگی خود ادامه داده و ممکن است ۷-۶ نسل در سال و یا بیشتر داشته باشد. لاروهای این آفت پس از خروج از تخم بلافاصله شروع به تغذیه و تارتنی کرده و پس از رشد کامل اندازه آنها به ۱۸-۱۵ میلی‌متر می‌رسد. دوره زندگی این حشره از تخم تا حشره‌ی کامل در دمای ۳۲°c، ۶۵-۲۵ روز و در دمای ۱۰°c، ۲۰۵-۱۱۰ روز طول می‌کشد (باقری زنوز، ۱۳۸۶). کوتاه‌ترین طول دوره لاروی (۳۲ روز) در رژیم غذائی مرطوب آرد گندم مشاهده شده و با افزایش سبوس به رژیم غذائی، طول دوره لاروی آن طولانی‌تر شد. لاروهای بید آرد دارای پنج سن لاروی بوده و فاصله سنین لاروی از هم ۴ روز، سن پنج تا شفیرگی ۱۰ روز و طول دوره شفیرگی۱۶-۷ روز می‌باشد. دوره نشو ونمای جنینی نیز ۵-۴ روز طول می‌کشد. بیشترین و کمترین تعداد تخم گذاشته شده به ترتیب در رژیم‌های غذائی خشک و مرطوب مشاهده می‌شود (یزدانیان و همکاران، ۱۳۷۹). لاروها سفید مایل به صورتی و در هر یک از حلقه‌های شکمی دارای لکه‌های کوچک تیره و مجهز به یک مو هستند (میرکریمی، ۱۳۸۲). لاروهای بید آرد بلافاصله پس از بیرون آمدن از تخم تغذیه خود را شروع کرده و از همان ابتدا شروع به تارتنی می‌کنند. میانگین عرض کپسول سر لاروهای سنین اول تا چهارم به ترتیب ۱۹۷، ۲۸۸، ۴۳۵ و ۷۲۷ میکرومتر و برای لاروهای سن پنج نر و ماده نیز به ترتیب ۱۱۱۴ و ۱۱۳۹ میکرومتر می باشد (یزدانیان و همکاران، ۱۳۷۹). اختلاف در عرض کپسول سر از سن چهار شروع شده و تا سن سوم لاروی معنی‌دار نیست. دمای بالاتر از ۳۰°C در دوره لاروی باعث دیاپوز گردیده و در هنگام پرورش

[1] Mediterranean flour moth

لاروها باید به این موضوع توجه نمود. شفیره از نوع غیر آزاد[1] و به رنگ قهوه‌ای بوده و تفکیک شفیره‌های نر و ماده به راحتی از طریق محل قرارگیری سوراخ تناسلی انجام می‌گیرد. طول عمر نرها بیشتر از ماده‌ها بوده و نسبت جنسی آنها یکسان می‌باشد.

بید مدیترانه‌ای آرد دارای موقعیت رده بندی بدین شرح است:

سلسله	Animali	خانواده	Pyralidae
شاخه	Arthropoda	زیرخانواده	Phycitinae
رده	Insecta	قبیله	Phycitini
راسته	Lepidoptera	جنس	*Anagasta*
بالاخانواده	Pyraloidea	گونه	*kuehniella*

لاروهای بید آرد در تمام طول دوره لاروی خود با تنیدن تار، برجای گذاشتن پوسته‌های حاصل از تعویض جلد و فضولات خود باعث آلودگی شدید مواد غذایی می‌شوند و با گذشت زمان، ماده غذایی شکل ظرفی را که در داخل آن ریخته شده به خود می‌گیرد. لاروها رفتار همنوع‌خواری داشته و افراد قوی‌تر در صورت نبود مواد غذایی، از لاروهای سنین پایین‌تر و شفیره‌ها تغذیه می‌کنند. لاروهای سن پنج نر در سطح پشتی حلقه پنجم شکم خود دارای یک لکه قرمز رنگ هستند در صورتیکه لاروهای ماده فاقد این لکه می‌باشند. حشره بالغ پروانه کوچکی است که عرض آن با بال های باز mm ۲۵-۲۰ می‌باشد (سپاسگزاریان، ۱۳۵۷). بال ها براق بوده و موقع استراحت به صورت شیروانی در پشت بدن قرار می‌گیرند. بال های روئی طویل و کم عرض، هر یک با دو نوار کم رنگ و لکه های تیره کوچک و مات، بال های عقبی سفید رنگ و در حاشیه دارای ریشک‌های فراوان هستند (میرکریمی، ۱۳۸۲).

[1] obtect

طول عمر حشره بالغ کوتاه، حداکثر یک هفته ولی گاهی تا ۲۴ روز هم گزارش شده است. جفت گیری ۲-۱ روز پس از ظهور حشرات بالغ صورت می‌گیرد و هر ماده در طول ۵-۴ روز عمر خود ۳۰۰-۲۰۰ عدد تخم می‌گذارد.

۱-۲- ریخت شناسی و فیزیولوژی دستگاه گوارش بید آرد

طول لوله گوارش و شکل آن بسته به رژیم غذائی حشرات فرق می‌کند و در حشرات راسته‌های مختلف متفاوت بوده به طوری که در حشرات گیاه‌خوار طویل و در حشرات گوشت‌خوار کوتاه می‌باشد. شکل لوله گوارش در لارو بالپولکیان به صورت یک لوله مستقیم و ساده بوده، بخش میانی دستگاه گوارش از مبدأ آندودرمی است و در هضم و جذب مواد غذائی دخیل می‌باشد. بخش میانی دستگاه گوارش یا معده[1] عضو اصلی ترشح، گوارش و جذب بوده و آنزیم‌های گوارشی مختلف در آن تولید شده که اکثراً از سلول های پوششی معده میانی در دستگاه گوارش آزاد می‌شوند. جدار معده از مبدأ آندودرمی بوده فاقد پوشش کیتینی و دارای رشته های ماهیچه‌ای داخلی حلقوی و خارجی طولی می‌باشد. غذا در اغلب حشرات توسط پرده اطراف غذا پوشیده می‌شود و این پرده مانع تماس مستقیم مواد غذائی خرد نشده با پوشش نرم معده می‌گردد. پرده اطراف غذا در بالپولکیان وجود ندارد. نیاز به غذا در حشرات متفاوت بوده و حشرات حساسیت‌های متفاوتی به بی‌غذائی دارند. بید آرد از نظر نیاز به آب بسیار مقاوم بوده و لاروهای آن روی مواد انباری کاملاً خشک فعالیت کرده آب مورد نیاز خود را در جریان متابولیسم به دست می آورند (شجاعی، ۱۳۸۱).

رهاسازی آنزیم‌ها در روده میانی حشرات توسط مواد آزاد شده از سلول های عصبی ترشحی مغز میانی تنظیم می‌شود. طی مطالعه‌ای که توسط هارشینی و همکاران (۲۰۰۳) روی پپتیدهای مغزی بالپولک *Opisina arenosella* Walker از خانواده Xyloryctidae انجام شد گزارش کردند که این مواد آزاد شده از مغز سبب تحریک تولید آمیلاز از بافت معده لاروها می‌شوند. بزاق اکثر حشرات

[1] Ventriculus

دارای آمیلاز و اینورتاز است که از نظر قابل جذب نمودن مواد غذائی اهمیت دارند و در بالپولکیان، بزاق برای حلِ مواد جامد مثل قندها به کار می‌رود. در لارو بالپولکیان و برخی زنبورها نیز ترشح رشته‌های ابریشمی برای تنیدن پیله یا نقل و انتقال، توسط غدد بزاقی لب پایین صورت می‌گیرد (باقری زنوز، ۱۳۷۸).

شکل ۱-۱: سنین لاروی شب‌پره مدیترانه ای آرد (*Anagasta kuehniella*)، و پیش شفیره، از چپ به راست شامل: سن سه، سن چهار، سن پنج نر، سن پنج ماده و پیش شفیره (اصلی).

۱-۳- آلفا-آمیلازها

کربوهیدرات‌ها مولکول‌های ذخیره کننده انرژی در بدن بوده و در رژیم غذائی اغلب حشرات اهمیت زیادی دارند. آنزیم آلفا-آمیلاز یک اندوآمیلاز است که حلقه α-D-(1,4)-glucan را در مواد نشاسته‌ای هیدرولیز می‌کند (استروبل و همکاران، ۱۹۹۸). اکثر مطالعات ساختاری انجام شده روی فعل و انفعالات آلفا-آمیلازها و آنالوگ‌های آن (کاست و همکاران، ۱۹۹۵)، مهارکننده‌های کربوهیدراتی (ماچیوس و همکاران، ۱۹۹۶) و مهارکننده‌های پروتئینی روی PPA (آلفا-آمیلاز پانکراسی) انجام شده‌اند و کار روی حشرات خیلی کمتر می‌باشد.

آنزیم‌های گوارشی در روده حشرات در سه گروه مختلف قرار می گیرند که بر اساس نوع سوبسترا شامل آنزیم‌های هیدرولیز کننده کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پروتئین‌ها می‌باشند. آنزیم‌های هضم کربوهیدرات‌ها توسط غدد بزاقی یا سلول‌های پوششی معده میانی ترشح می‌شوند. نشاسته و ترکیبات کربوهیدراتی دیگر به‌جز سلولز که اکثر حشرات نمی‌توانند آنرا هضم کنند، توسط حشرات گیاه خوار بلعیده شده و گلیکوژن نیز توسط حشرات گوشت‌خوار مورد تغذیه قرار می‌گیرد. در مورد آنزیم‌های هضم چربی‌ها نیز گفتنی است که اکثر چربی‌های مصرفی توسط حشره از نوع تری آسیل گلیسرول‌ها هستند. لیپاز از معده میانی ترشح شده و در برخی حشرات از همزیست‌هائی که از اسیدهای چرب و تری گلیسرول تغذیه می‌کنند ترشح می‌شود. هضم پروتئین در حشرات توسط آنزیم‌هائی صورت می‌گیرد که بصورت آزاد در لومن معده یا متصل به غشاء وجود دارند (نیشن، ۲۰۰۸). به طور کلی آنزیم‌هائی که روی پیوندهای پپتیدی اثر می‌گذارند به دو گروه اندوپروتئازها و اگزوپروتئازها تقسیم می‌شوند. مشخصه‌ای که اختلاف بین دو گروه فوق را نشان می‌دهد این است که پروتئازهای داخلی به بخش‌هائی که بین اسید آمینه‌های مشخصی واقع هستند حمله کرده، زنجیره پروتئینی را از وسط شکسته و آنرا به پلی پپتیدها تجزیه می‌کنند در حالیکه پروتئازهای خارجی به یکی از دو انتهای زنجیره پروتئینی حمله کرده و از ناحیه انتهائی اسید آمینه سبب قطع زنجیره می‌شوند (بارت و رولینگز، ۱۹۹۱). آنزیم آلفا-آمیلاز نشاسته را به دی‌ساکاریدها و تری‌ساکاریدهائی تبدیل می‌کند که خود توسط آنزیم‌های دیگر به گلوکز تبدیل خواهند شد. گیاهان و برخی باکتری‌ها نیز تولید آمیلاز می‌کنند. به عنوان یک واسطه حیاتی[1] آمیلاز اولین آنزیمی است که در سال ۱۸۳۳ کشف گردیده است (هیل و نیدهام، ۱۹۷۰). آمیلازهای مختلف توسط حروف یونانی مشخص می‌شوند ولی ویژگی مشترک همه انواع آمیلاز این است که پیوندهای گلیکوزیدی را که بصورت 1,4-glycosidic وجود دارند هیدرولیز می‌کنند. آلفا-آمیلازها اتصالات 1,4-D-glycosidic را در هیدروکربن‌هائی که دارای

[1] Diastase

بیش از ۳ واحد D-Glucose متصل بـه α-1,4 هسـتند، هیـدرولیز مـی‌کننـد. در واقـع گلیکوزیـدازها هیدرولیزکننده پیوند o-گلیکوزیل هستند. آنزیم آلفا-آمیلاز همچنین به نام‌های گلیکوژناز و-α-D-1,4 glucan- glucanohydrolase نیز خوانده می‌شود. و از آن‌جائیکه قادر اسـت کـاملاً در غیـاب کلسـیم فعالیت کند calcium metalloenzyme نیز گفته می‌شود. آنزیم آلفا-آمـیلاز بـا عمـل در محـل‌هـای تصادفی در طول زنجیره نشاسته، زنجیره کربوهیدرات را در مکان‌های مختلف شکسته و تولید مـالتوز، مالتوتریوز و دکسترین می‌کند. آنزیم α-amylase تمایل دارد تا سریع تر از β-amylase فعالیت کنـد. در حیوانات آلفا-آمیلاز، یکی از آنزیم‌های اصلی و مهم بوده و pH بهینه فعالیت آن ۷-۶/۷ مـی‌باشـد. در فیزیولوژی انسانی هر دو نوع آنزیم‌های آمیلاز پانکراسی و بزاقی از نوع آلفا-آمیلاز می‌باشند. آنـزیم آلفا-آمیلاز همچنین در گیاهان، قارچ‌هـا (آسکومایسـت‌هـا و بازیدیومایسـت‌هـا) و بـاکتری‌هـا (مثـل Bacillus) یافت می‌شود. آنـزیم β-amylase کـه بـه نـام‌هـای 1,4-α-D-glucan maltohydrolase و saccharogen amylase نیز خوانده می‌شود، همانند آلفا-آمیلازها توسط باکتری‌ها، گیاهان و قارچ‌هـا نیز تولید می‌شود. بتا آمیلازها هیدرولیز دومین پیوند α-1,4 glycosidic را برعهده دارند و واحـدهای دوقندی مثل مالتوز را می‌شکنند. در طول رسیدن میوه‌ها بتا آمیلاز نشاسـته را بـه مـالتوز شکسـته و سبب رسیده شدن و طعم شیرین میوه‌ها می‌شود. آنزیم γ-amylase که بـه نـام‌هـای Glucan 1,4-α-glucosidase، آمیلوگلوکوزیداز، Exo-1,4-α-glucosidase، گلوکوآمیلاز، آلفاگلوکوزیـداز لیزوزومـی و 1,4-α-D-glucan glucohydrolase نیـز شـناخته مـی‌شـود، مسـئول شکسـتن پیونـدهای α(1-4)glycosidic در آمیلـوز و آمیلـوپکتین و نیـز شکسـتن پیونـدهای α(1-6) glycosidic مـی‌باشـد. برخلاف دیگر فرم‌های آمیلاز، گاما آمیلاز درمحیط های اسیدی فعال‌تر بوده و pH بهینه فعالیت آن ۳ می‌باشد (چاپمن، ۱۹۸۵). نشاسته کربوهیدراتی است شامل تعداد زیادی واحـد گلـوکز کـه از طریـق پیوندهای گلیکوزیدیک به یکدیگر متصل شده، فرمول مولکولی آن $(C_6H_{10}O_5)_n$ بوده و شامل دو نـوع

مولکول آمیلوز و آمیلوپکتین می‌باشد. پیوند گلیکوزیدیک[1] پیوندی است که مولکول کربوهیدرات را به یک گروه دیگر که می‌تواند کربوهیدرات یا مولکول دیگری باشد، متصل می‌کند. این پیوند به طورمشخص بین گروه همی‌استال[2] یک ساکارید (یا مولکول مشتق شده از ساکارید) و گروه هیدروکسیل برخی ترکیبات آلی از قبیل الکل شکل می‌گیرد (قاضی جهانی و همکاران، ۱۳۷۳).

۱-۴- تاثیر مهارکننده‌های گیاهی و رژیم‌های غذایی بر فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز و فراسنجه‌های زیستی حشرات

بیشترین مطالعات آنزیمی برای تعیین ویژگی‌های آنزیم‌ها و شناسائی مهارکننده‌های آنزیمی در حشرات، روی آنزیم‌های پروتئاز، لیپاز و آمیلاز صورت گرفته است. اکثر مطالعات آنزیمی روی آمیلازها در راسته‌های سخت بالپوشان، بالپولکداران و ناجوربالان صورت گرفته و کارهای کمتری نیز در دوبالان و سوسری‌ها انجام پذیرفته است.

گوتیرز و همکاران (۱۹۹۰) تاثیر مهارکننده‌های استخراجی از گندم و جو را روی فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز در آفات مختلف مورد مطالعه قرار دادند و مشخص شد که این مهارکننده‌ها باعث مهار فعالیت آنزیم می‌شوند. سیلواکومارا و همکاران (۲۰۰۶) اثر مهارکنندگی مهارکننده‌های استخراجی از گندمیان را روی برخی سخت‌بالپوشان خانواده‌ی Bruchidae و شب‌پره‌ی *Carcyra cephalonica* (Stainton, 1865) (Lep., Pyralidae) بررسی کردند.

در بررسی دیگری اثرات مهارکننده‌های آلفا-آمیلاز تهیه شده از گندم روی آنزیم آلفا-آمیلاز برخی آفات انباری در شرایط آزمایشگاهی و شرایط طبیعی در آزمایش‌های مزرعه‌ای بررسی شد. نتایج به دست آمده از این تحقیق پیشنهاد می‌کند که این نتایج در تقابل با پیشنهادهای قبلی در این زمینه

[1] glycosidic bond
[2] Hemiacetal

بوده و انتخاب رقم‌های گندم با فعالیت مهارکنندگی بالا در مقابل آفات نمی‌تواند معیار دقیق و قابل اعتمادی در مقاومت باشد (آنگاراد و همکاران، ۱۹۸۶).

در مطالعه فنگ و همکاران (۱۹۹۶) مهارکننده‌های آنزیم آلفا-آمیلاز تحت عناوین WRP24, WRP25, WRP26 و WRP27 توسط روش کروماتوگرافی مایع فاز معکوس از آرد گندم خالص‌سازی شده و اثر آن‌ها روی آلفا-آمیلاز حشرات انباری بررسی گردید و نشان داده شد که این مهارکننده‌ها باعث کند شدن رشد حشرات می‌شوند.

مهارکننده‌های آنزیم بافت‌های گیاهی بواسطه فعالیتشان روی بخش آلفا-آمیلاز و پروتئیناز از فرآیند هضم جلوگیری می‌کنند که این ترکیبات قسمتی از دفاع طبیعی گیاهان زراعی هستند(سیلانو و همکاران، ۱۹۷۳، پتروسی و همکاران، ۱۹۷۴، ۱۹۷۶، بونوکور و همکاران، ۱۹۷۷، بونوکور و سیلانو، ۱۹۸۵). مطالعات ثابت کرده که مقدار کمی از این پروتئین‌ها، آمیلاز بعضی گونه‌های حشرات و پستانداران را در محیط غیر زنده[1] مهار می‌کنند. در حالی که هیچ‌گونه اثر بازدارندگی روی آمیلاز گندم نداشتند(سیلانو و همکاران ۱۹۷۵، فرانکو و همکاران ۲۰۰۲). بدیهی است که این مهارکننده‌های پروتئینی می‌توانند به عنوان عوامل حفاظت از بذور در برابر حشرات دانه‌خوار عمل کنند نه به عنوان عوامل تنظیمی در متابولیسم آمیلاز گیاهان (اپلبام ۱۹۶۴، سیلانو و همکاران ۱۹۷۵، وایتاکر ۱۹۸۳، بونوکور و سیلانو، ۱۹۸۵). یتر و همکاران (۱۹۷۹) یک رابطه منفی معنی‌داری بین تعداد نتاج شپشه گندم و درصد مهارکنندگی آلفا-آمیلاز چندین رقم گندم گزارش کردند .سیلانو و همکاران (۱۹۷۵) مشاهده کردند که گونه‌هایی از حشرات که به دانه‌های گندم و فرآورده‌های آن حمله می‌کنند، فعالیت آمیلاز بالا و حساسیت زیادی به مهار توسط عصاره‌های آلبومین گندم دارند. بیکر (۱۹۸۸) گزارش کرد که*Sitophilus zeamais* (Motschulsky, 1855) (Col.: Curculionidae) و *S. oryzae* وقتی روی گندم تغذیه کردند در مقایسه با جو فعالیت آلفا-آمیلاز بسیار کمتری داشتند.

[1] invitro

وول و همکاران (۱۹۸۶) در مطالعه‌ای نشان دادند که محتوی دانه‌های گندم می تواند فعالیت آلفا-آمیلاز حشرات تغذیه کننده را تحت تاثیر قرار بدهد به عنوان مثال مشاهده شد که لارو و حشرات بالغ *Drosophila melanogaster* Meigen, 1830 (Dip.: Drosophilidae) و *S. oryzae* می‌تواند به طور انتخابی روی غذاهای مختلف تغذیه کنند و فعالیت آلفا-آمیلازشان را تنظیم کنند. چون رقم‌های مختلف گندم در میزان مهار فعالیت آلفا-آمیلاز و هجوم حشرات اختلاف دارند (آپلبام و کونیجان ۱۹۶۷)، این اختلاف ها را می‌توان از طریق ارزیابی‌های مختلف از جمله موفقیت تولید مثلی روی رقم‌های مختلف، فعالیت آلفا-آمیلاز حشرات بالغ ظاهر شده‌ی نسل F1 و اثر مهار کنندگی آلفا-آمیلاز عصاره‌ی هر رقم روی آنزیم آلفا-آمیلاز حشرات پرورش یافته روی همان رقم در محیط غیر زنده بدست آورد.

بائوید و همکاران (۲۰۰۸) اثر چهار رژیم مختلف غذایی شامل: آرد گندم، خرما، سورگوم و جو را روی فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز، میزان تولید پروتئین و گلیکوژن و نیز نشوونمای مراحل بعد جنینی شب‌پره‌ی هندی *Plodia interpunctella* (Hubner) (Lep.: Pyralidae) بررسی کردند. نتایج نشان داد که میزان پروتئین و فعالیت آلفا-آمیلاز در لاروهای پرورش یافته روی خرما در مقایسه با سایر رژیم‌های غذایی کمتر بود. این کاهش در فعالیت آلفا آمیلاز احتمالاً به علت وجود سطح بالایی از گلوکز و کمبود محتوای پروتئین و نشاسته در خرما می‌باشد. همچنین نتایج نشان داد وزن لارو سن چهار پرورش یافته روی خرما بتدریج افزایش یافته، درصد مرگ‌ومیر لاروی پایین و شفیره‌ها و حشرات بالغ نیز با تاخیر ظاهر شدند. وزن لاروهای پرورش یافته روی آرد گندم، سورگوم و جو پایین باقی ماند و شفیره‌ها و حشرات بالغ آنها زودتر از خرما ظاهر شدند. بالاترین درصد مرگ‌ومیر لاروی نیز روی جو گزارش گردیده بود.

پریبا و همکاران (۲۰۱۰) اثر مهارکنندگی تعدادی از ترکیبات از جمله مهارکننده‌های گندم را روی آلفا-آمیلاز(*Rhyzopertha dominica* (Fabricius, 1792) (Col.: Bostrichidae مطالعه کردند.