بسم الله الرحمن الرحيم

بسمه تعالی

آیین نامۀ چاپ پایان نامه(رساله) های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله) های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبیّن بخشی از فعالیتهای علمی-پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می شوند:

مادّه ۱- در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به دفترنشرآثار آثارعلمی دانشگاه اطلاع دهد.

مادّه ۲- در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:

کتاب حاضر، حاصل رساله دکتری نگارنده در رشته مهندسی کشاورزی- حشره شناسی کشاورزی است که در سال ۱۳۹۳ در دانشکدۀ کشاورزی دانشگاه تربیت مدرّس به راهنمایی جناب آقای دکتر یعقوب فتحی پور و مشاورۀ جناب آقایان دکتر مختار جلالی جواران و دکتر محمود سوف باف از آن دفاع شده است"

مادّه ۳- به منظور جبران بخشی از هزینه های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به دفتر نشر آثار علمی دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

مادّه ۴- در صورت عدم رعایت مادّه ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تأدیه کند.

مادّه ۵- دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند، به علاوه به دانشگاه حق می دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در مادّه ۴ را از محلّ توقیف کتابهای عرضه شدۀ نگارنده برای فروش، تأمین نماید.

مادّه ۶- اینجانب **مهرنوش نیکویی** دانشجوی رشته مهندسی کشاورزی- حشره شناسی کشاورزی، مقطع دکتری تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

نام و نام خانوادگی: **مهرنوش نیکویی**

دستورالعمل حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش های علمی دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست های پژوهشی دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسان ها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیات علمی، دانشجویان، دانش آموختگان و دیگر همکاران طرح در مورد نتایج پژوهش های علمی که تحت عناوین پایان نامه، رساله و طرح های تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد ذیل را رعایت نمایند:

ماده ۱- حقوق مادی و معنوی پایان نامه ها، رساله های مصوب دانشگاه متعلق به دانشگاه است و هرگونه بهره برداری از آن باید با ذکر نام دانشگاه و رعایت آیین نامه ها و دستورالعمل های مصوب دانشگاه باشد.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان نامه/رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی می باید به نام دانشگاه بوده و استاد راهنما نویسنده مسئول مقاله باشند.

تبصره : در مقالاتی که پس از دانش آموختگی به صورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان نامه و رساله منتشر می شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب حاصل از نتایج پایان نامه، رساله و تمامی طرح های تحقیقاتی دانشگاه باید با مجوز کتبی صادره از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه و براساس آیین نامه های مصوب انجام شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه در جشنواره های ملی، منطقه ای و بین المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان نامه، رساله و تمامی طرح های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این دستورالعمل در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۱۳۸۴/۴/۲۵ در شورای پژوهشی دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب لازم الاجرا است و هرگونه تخلف از مفاد این دستورالعمل از طریق مراجع قانونی قابل پیگیری خواهد بود.

دانشگاه تربیت مدرس

دانشکده کشاورزی

گروه حشره شناسی کشاورزی

رساله دکتری

تاثیر تغییرات ژنتیکی کلزا روی ویژگی‌های زیستی *Plutella xylostella* و زنبور پارازیتوئید *Diadegma semiclausum*

نگارش

مهرنوش نیکویی

استاد راهنما:

دکتر یعقوب فتحی پور

اساتید مشاور:

دکتر مختار جلالی جواران دکتر محمود سوف باف

بهمن ۱۳۹۳

چکیده

بشر در طی سالیان، به منظور غلبه بر مشکلات ناشی از افزایش جمعیت خود و تولید روز افزون مواد غذایی، دستکاری‌های ژنتیکی زیادی در گیاهان انجام داده است. در این پژوهش تأثیر این تغییرات بر سطوح سه گانه تغذیه‌ای گیاه- گیاهخوار- پارازیتوئید مورد بررسی قرار گرفت. تاثیر گیاهان مختلف کروسیفر که از نظر میزان این دستکاری‌ها با هم متفاوت بودند، شامل جد وحشی کلزا *Brassica rapa* L.، ۲ رقم زراعی کلزا Opera و RGS_{003}، رقم هیبرید $Hyula_{401}$، و ۲ لاین موتانت RGS_{003} و تراریخت PF کلزا بر پارامترهای زیستی بید کلم *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) و زنبور پارازیتوئید *Diadegma semiclausum* Helen (Hymenoptera: Ichneumonidae) در اتاق رشد با دمای ۱±۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۶۰ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی مورد بررسی قرار گرفت. میزان گلوکوزینولات‌ها به عنوان شاخصی از دفاع شیمیایی گیاهان میزبان اندازه‌گیری شد. نتایج آزمایشات نشان داد که بیشترین کارایی بید کلم و زنبور پارازیتوئید روی گیاهانی با میزان گلوکوزینولات‌های بالاتر (جد کلزا و ارقام زراعی) می‌باشد. بیشترین و کمترین نرخ ذاتی افزایش جمعیت (r) بید کلم به ترتیب روی رقم زراعی Opera (۰/۲۳۶ بر روز) و لاین تراریخت (۰/۰۷۱ بر روز) گزارش شد. در تمامی گیاهان مورد مطالعه، میزان گلوکوزینولات‌ها پس از تغذیه بید کلم به طور معنی داری افزایش یافت. بیشترین مقدار گلوکوزینولات‌ها پس از تغذیه گیاهخوار در جد کلزا (۲۹/۳۳ میکرومول بر گرم) برآورد گردید. به طور کلی بید کلم روی لاین-های موتانت و تراریخت طول دوره نابالغ طولانی‌تر، باروری و بقای کمتری نسبت به بقیه گیاهان داشت. مقایسه پارامترهای زیستی و ساختاری زنبور پارازیتوئید روی گیاهان مورد مطالعه نشان داد که این پارازیتوئید روی ارقام زراعی باروری و پارازیتیسم بیشتری نسبت به سایر گیاهان داشته است. از طرفی وزن شفیره‌ها و حشرات ماده زنبور پارازیتوئید روی این گیاهان بیشتر از بقیه گزارش شد. نرخ متناهی پارازیتیسم (ω) برای زنبور پارازیتوئید مورد مطالعه روی گیاهان مختلف کروسیفر از ۰/۲۰۲ تا ۰/۲۸۵ (میزبان بر روز) متغیر بود. ظرفیت پارازیتیسم این پارازیتوئید روی ارقام زراعی و جد کلزا بیشترین و روی لاین‌های موتانت و تراریخت کمترین میزان برآورد گردید. این اطلاعات که چگونه دستکاری‌های ژنتیکی گیاهان مورد مطالعه و کیفیت گیاه میزبان می‌تواند بر پارامترهای زیستی این حشره و زنبور پارازیتوئید آن تاثیر بگذارد، کمک شایانی به درک مناسب دینامیسم جمعیت و مدیریت این حشره آفت می‌کند. همچنین مطالعه حاضر تاثیر دستکاری‌های انسان را در گیاهان کروسیفر از طریق اهلی سازی و اصلاح نباتات در وضعیت تعاملات این گیاهان با حشرات فعال در سطوح تغذیه ای بالاتر تا حدودی روشن می‌سازد.

کلمات کلیدی: گیاهان دستکاری شده کروسیفر، دفاع گیاه، سطوح سه گانه تغذیه‌ای، بید کلم، زنبور پارازیتوئید *Diadegma semiclausum*

فهرست مطالب

عنوان ..... صفحه

۱- فصل اول: مقدمه ۲

۲- فصل دوم : مروری بر مطالعات انجام شده ۶

۲-۱ گیاه شناسی کلزا ۷

۲-۱-۱ گلوکوزینولات‌ها ۸

۲-۲ بید کلم ۹

۲-۳ زنبور پارازیتوئید *Diadegma semiclausum* ۱۰

۲-۴ نقش گیاه میزبان بر کارایی حشرات گیاهخوار و پارازیتوئیدها ۱۱

۲-۵ برهمکنش‌های سه سطحی در سیستم‌های گیاه-گیاهخوار-گوشتخوار ۱۲

۲-۵-۱ گلوکوزینولات‌ها و سیستم‌های سه گانه تغذیه‌ای ۱۳

۲-۵-۱-۱ گلوکوزینولات‌ها به عنوان محرک تخمریزی و تغذیه حشرات گیاهخوار ۱۶

۲-۵-۱-۲ گلوکوزینولات‌ها به عنوان ترکیبات دفاعی ۱۷

۲-۵-۱-۳ راه‌های سازگاری حشرات گیاهخوار با گلوکوزینولات‌ها ۱۸

۲-۶ پارامترهای زیستی و گیاهان میزبان ۱۹

۲-۷ مطالعات دموگرافی ۲۰

۳- فصل سوم: مواد و روش‌ها ۲۵

۳-۱ کشت گیاهان میزبان ۲۵

۳-۲ پرورش آزمایشگاهی بید کلم *P. xylostella* ۲۶

۳-۳ پرورش آزمایشگاهی زنبور پارازیتوئید *D. semiclausum* ۲۸

۳-۴ تعیین پارامترهای زیستی بید کلم روی گیاهان مختلف مورد مطالعه ۲۸

۳-۵ نحوه‌ی انجام تجزیه داده‌های دموگرافی ۳۰

۳-۵-۱ جدول زندگی تک جنسی (Female age-specific life table) ۳۰

۳-۵-۲ جدول زندگی دو جنسی (Two-sex life table) ۳۲

۳-۶ تعیین پارامترهای زیستی زنبور پارازیتوئید *D. semiclausum* روی گیاهان مختلف میزبان ۳۷

۳-۷ اندازه گیری برخی ویژگی‌های ساختاری *D. semiclausum* ۳۹

۳-۸ مطالعه پارازیتیسم زنبور پارازیتوئید *D. semiclausum* ۳۹
۳-۹ اندازه گیری میزان گلوکوزینولات‌ها ۴۲
۴- فصل چهارم: نتایج ۴۵
۴-۱ بخش اول: مطالعه گیاهخوار (بید کلم) ۴۵
۴-۱-۱ طول مراحل مختلف سنی بید کلم ۴۵
۴-۱-۲ طول دوره‌های مختلف تخمریزی و باروری بید کلم ۴۵
۴-۱-۳ پارامترهای مرگ و میر و تولید مثلی بید کلم ۴۹
۴-۱-۴ جدول زندگی (پارامترهای رشد جمعیت) بید کلم ۵۶
۴-۲ دفاع شیمیایی گیاهان میزبان ۵۹
۴-۲-۱ میزان گلوکوزینولات‌ها در برگ گیاهان مورد مطالعه ۵۹
۴-۳ مطالعه زنبور پارازیتوئید *Diadegma semiclausum* ۶۱
۴-۳-۱ طول مراحل مختلف سنی زنبور پارازیتوئید ۶۱
۴-۳-۲ طول دوره‌های مختلف تخمریزی و باروری زنبور پارازیتوئید ۶۱
۴-۳-۳ ویژگی‌های ساختاری زنبور پارازیتوئید ۶۲
۴-۳-۴ پارامترهای مرگ و میر و تولید مثلی زنبور پارازیتوئید ۶۴
۴-۳-۵ جدول زندگی زنبور پارازیتوئید (پارامترهای رشد جمعیت) ۷۱
۴-۳-۶ مطالعه پارامترهای اختصاصی پارازیتیسم زنبور پارازیتوئید ۷۱
۵- فصل پنجم: بحث ۷۹
۵-۱ جداول زندگی تک جنسی و دوجنسی ۸۰
۵-۲ کارایی بید کلم ۸۱
۵-۲-۱ نقش ترکیبات ثانویه گلوکوزینولات‌ها بر کارایی بید کلم ۸۴
۵-۳ کارایی زنبور پارازیتوئید *D. semiclausum* ۸۹
۵-۴ نتیجه گیری و پیشنهادات ۹۴
فهرست منابع ۹۵

فهرست جداول	صفحه
جدول ۴-۱ مقایسه میانگین طول مراحل مختلف سنی بید کلم *P. xylostella* روی گیاهان مختلف کروسیفر در شرایط آزمایشگاهی	۵۰
جدول ۴-۲ مقایسه میانگین (±SE) طول عمر افراد نر و ماده بید کلم *P. xylostella* روی گیاهان مختلف کروسیفر در شرایط آزمایشگاهی	۵۱
جدول ۴-۳ مقایسه میانگین (±SE) طول مراحل مختلف تخمریزی و باروری بید کلم *P. xylostella* روی گیاهان مختلف کروسیفر در شرایط آزمایشگاهی	۵۲
جدول ۴-۴ پارامترهای رشد جمعیت بید کلم *P. xylostella* روی گیاهان مختلف کروسیفر در شرایط آزمایشگاهی	۶۲
جدول ۴-۵ مقایسه میانگین (±SE) میزان گلوکوزینولات‌ها (میکرومول بر گرم وزن خشک) قبل و پس از تغذیه بید کلم روی گیاهان مختلف کروسیفر	۶۴
جدول ۴-۶ طول مراحل مختلف سنی و تخمریزی، باروری و پارامترهای ساختاری زنبور پارازیتوئید *D. semiclausum* روی لاروهای بید کلم پرورش یافته روی گیاهان مختلف کروسیفر	۶۸
جدول ۴-۷ پارامترهای رشد جمعیت زنبور پارازیتوئید *D. semiclausum* روی لاروهای بید کلم پرورش یافته روی گیاهان مختلف کروسیفر	۷۸
جدول ۴-۸ پارامترهای پارازیتیسم زنبور پارازیتوئید *D. semiclausum* پرورش یافته روی لاروهای بید کلم روی گیاهان مختلف کروسیفر	۷۹

فهرست شکل‌ها	صفحه

شکل ۳-۱. (الف)، کشت گیاه کلزا در جعبه کشت‌های پلاستیکی به منظور انجام آزمایشات دموگرافی (ب)، گلدان‌های پلاستیکی حاوی گیاه کلزا به منظور تشکیل کلنی و تغذیه بید کلم (ج)، قفس‌های چوبی برای پرورش انبوه بید کلم (د)، کلنی مستقر حشرات بالغ بید کلم پس از مصرف گیاه کلزا ۲۷

شکل ۳-۲. پرورش بید کلم در قفس‌های چوبی حاوی گیاه کلزا ۲۸

شکل ۳-۳. (الف)، حشرات کامل نر و (ب)، حشرات ماده زنبور پارازیتوئید *D. semiclausum* (ج)، قفس پلاستیکی شفاف برای تخمگیری از حشرات کامل بید کلم در مراحل مختلف آزمایش و نیز نگه‌داری جمعیت پارازیتوئیدها در شرایط گلخانه (د)، شفیره‌های زنبور پارازیتوئید جمع آوری شده از مزرعه ۲۹

شکل۳-۴. (الف)، قفس‌های کوچک پلاستیکی تعبیه شده روی گیاهان کلزا در حین آزمایش دموگرافی بید کلم (ب)، ظروف شفاف پلاستیکی برای نگه‌داری شفیره‌ها و حشرات کامل و ثبت تخمریزی روزانه بید کلم (ج) و (د)، جعبه کشت‌های گیاه کلزا در حین آزمایش دموگرافی بید کلم ۳۱

شکل ۳-۵ (الف و د) ظروف پلاستیکی ۳۰۰ گرمی استفاده شده در آزمایشات جدول زندگی زنبور پارازیتوئید (ب) فالکون‌های پلاستیکی ۷ سانتی‌متری برای جفتگیری زنبورهای پارازیتوئید قبل از شروع آزمایش پارازیتیسم و جدول زندگی باروری (ج)، شفیره‌های تشکیل شده زنبور پارازیتوئید ۳۹

شکل ۳-۶ دستگاه HPLC به منظور تعیین مقدار گلوکوزینولات‌های گیاهان مختلف کروسیفر ۴۴

شکل ۴-۱ نرخ بقای ویژه سنی-مرحله سنی (s_{xj}) بید کلم روی گیاهان مختلف کروسیفر ۵۶

شکل ۴-۲ امید به زندگی ویژه سنی- مرحله سنی (e_{xj}) بید کلم روی گیاهان مختلف کروسیفر ۵۷

شکل ۴-۳ نرخ بقای ویژه سنی (l_x)، باروری ویژه سنی (m_x) و باروری ویژه سنی-مرحله سنی ماده (f_{xj}) بید کلم روی گیاهان مختلف کروسیفر ۵۸

شکل ۴-۴ ارزش تولید مثلی ویژه سنی-مرحله‌ای (v_{xj}) بید کلم روی گیاهان مختلف کروسیفر ۵۹

شکل ۴-۵ امید به زندگی ویژه سنی-مرحله سنی (e_{xj}) زنبور پارازیتوئید *D. semiclausum* روی گیاهان مختلف کروسیفر ۷۲

شکل ۴-۶ نرخ بقای ویژه سنی-مرحله سنی (s_{xj}) زنبور پارازیتوئید *D. semiclausum* روی گیاهان مختلف کروسیفر ۷۳

شکل ۴-۷ نرخ بقای ویژه سنی (l_x)، باروری ویژه سنی (m_x) و باروری ویژه سنی- مرحله سنی ماده (f_{xj}) زنبور پارازیتوئید *D. semiclausum* روی گیاهان مختلف کروسیفر ۷۴

شکل ۴-۸ ارزش تولید مثلی ویژه سنی-مرحله‌ای (v_{xj}) زنبور پارازیتوئید *D. semiclausum* روی گیاهان مختلف کروسیفر ۷۵

شکل ۴-۹ نرخ پارازیتیسم سنی- مرحله سنی (c_{xj}) زنبور ماده پارازیتوئید *D. semiclausum* روی لاروهای بید کلم پرورش یافته روی گیاهان مختلف کروسیفر ۸۱

شکل ۴-۱۰ نرخ پارازیتیسم ویژه سنی (k_x) و نرخ خالص پارازیتیسم ویژه سنی (q_x) زنبور پارازیتوئید *D. semiclausum* روی لاروهای بید کلم پرورش یافته روی گیاهان مختلف کروسیفر ۸۲

فصل اول

مقدمه

(Introduction)

۱- فصل اول: مقدمه

با توجه به اهمیت گیاهان در تغذیه انسان، بشر همواره به منظور غلبه بر مشکلات ناشی از افزایش جمعیت خود، اقدام به دستکاری‌های زیادی در گیاهان نموده است. از جمله این دستکاری‌ها، استفاده از تکنیک‌های اصلاحی و ژنتیکی و دستیابی به گیاهانی که دارای صفات مطلوب برای بشر هستند، می‌باشد. گیاهان هیبرید، تراریخت و موتانت‌های اتمی محصول همین دستکاری‌ها می‌باشند. این تغییرات در بسیاری از موارد، منجر به افزایش کمیت و کیفیت گیاهان و محصولات غذایی، از جمله تولید واریته‌های هیبرید و اصلاح شده با میزان عملکرد و ارزش غذایی بالا، کیفیت پروتئین یا دارا بودن برخی از ویتامین‌ها و صفات رویشی مطلوب می‌شود. این تغییرات از سویی به نفع انسان بوده و از سویی دیگر یک خطر پنهان در بردارد و می‌تواند دریچه‌ای را برای افزایش جمعیت آفات به جهت ایجاد بستر مناسب برای رشد و تولید مثل و افزایش منابع غذایی آن‌ها باز کند.

بید کلم *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) در هر کجا که گیاهان تیره کروسیفر رشد کنند، یافت می‌شود و به عنوان آفت مهم این خانواده در جهان شناخته می‌شود (Talekar and Shelton, 1993; Schroeder *et al*., 2000). طیف میزبان‌های طبیعی آن محدود به گیاهان کروسیفر (Brassicaceae) زراعی و وحشی بوده که با داشتن ترکیبات ثانویه گیاهی دارای سولفور یعنی گلوکوزینولات‌ها مشخص می‌شوند. بالغین از مجموعه‌ای از علایم شیمیایی و مورفولوژیک برای یافتن و تشخیص گیاه میزبان استفاده می‌کنند (Nayar and Thorsteinson, 1963; David and Gardiner, 1966; Renwick and Lopez, 1999; Ratzka *et al*., 2002).

گلوکوزینولات‌ها، مواد فرارگیاهی، موم‌ها و نیز مواد غذایی گیاه میزبان، شکل و رنگ برگ و یا ترکیبی از این فاکتورها ممکن است فعالیت‌های تغذیه و تولید مثلی بید کلم را تحت تاثیر قرار دهند. ترکیبات ثانویه گلوکوزینولات‌ها به عنوان محرک‌های تغذیه و تخمریزی بید کلم عمل می‌کنند (Gupta and

Thorsteinson, 1960; Thorsteinson, 1953; Reed *et al*., 1989; Justus and Mitchell, 1996; Ratzka *et al*., 2002; Marazzi *et al*., 2004; Shelton and Nault, 2004). اما مقادیر بالای این ترکیبات می‌تواند برای این حشرات سمی باشند (Agrawal and Kurashige, 2003). میزان این ترکیبات در ارقام دستکاری شده توسط انسان کمتر از ارقام وحشی است. این ترکیبات ثانویه به عنوان مکانیسم‌های دفاعی شیمیایی گیاه نیز به شمار می‌روند و نه تنها رشد و بقای گیاهخوار، بلکه عملکرد پارازیتوئیدها را هم تحت تأثیر قرار می-دهند. زنبور پارازیتوئید*Diadegma semiclausum* Helen (Hymenoptera: Ichneumonidae) از عوامل کنترل بیولوژیک موثر بید کلم به شمار می‌رود. در سرتاسر جهان، موثرترین پارازیتوئیدهای لاروی متعلق به دو جنس بزرگ *Diadegma* و *Cotesia* می‌باشند (Lim, 1986).

ایجاد گیاهان هیبرید، اصلاح شده و موتانت نمونه‌ای از دستکاری‌های ژنتیکی در گیاهان است. این تغییرات ژنتیکی در ویژگی‌های گیاهان دارای اثرات مستقیم و غیر مستقیم بر جمعیت‌های گیاهخواران و دشمنان طبیعی آن‌ها می‌باشد. چنین اثرات bottom-up (نیروهای رو به بالا یا تاثیر گیاه روی گیاهخوار و گوشتخوار) ژنوتیپ گیاهان ممکن است با اثرات top-down (نیروهای رو به پایین یا تاثیر گوشتخوار و گیاهخوار روی گیاه) پارازیتیسم برهمکنش نموده و در نهایت بر دینامیسم جمعیت گیاهخواران اثر بگذارد (Karimzadeh *et al*., 2004; Karimzadeh and Wright, 2008; Sarfraz *et al*., 2008; Soufbaf *et al*., 2010a, b; Soufbaf *et al*., 2012). اما اهمیت نسبی این فاکتورها مورد مطالعه قرار نگرفته است (Johnson, 2008).

دینامیسم جمعیت گیاهخواران و نیز دینامیسم جمعیت‌های گیاهخوار- دشمن طبیعی ممکن است تحت تاثیر تغییرات کیفیت گیاه میزبان قرار گیرد. به علاوه، تغییر در کیفیت گیاه میزبان نیز ممکن است بر اندازه بدن گیاهخواران و دشمن طبیعی موثر باشد (Soufbaf *et al*., 2010a, b; Soufbaf *et al*., 2012; Sarfraz *et al*., 2009).

در این مطالعه تمرکز ما روی تاثیر تغییرات ژنتیکی صورت گرفته در گیاه کلزا و دفاع شیمیایی گیاه میزبان بر پارامترهای زیستی گیاهخوار و پارازیتوئید می‌باشد. به عبارت دیگر تأثیر انواع مختلف گیاه کلزا (از نوع

وحشی، اهلی شده یا زراعی، هیبرید، تراریخت و جهش یافته با اشعه گاما) بر پارامترهای زیستی گیاهخوار (*P. xylostella*) و زنبور پارازیتوئید (*D. semiclausum*) مورد مطالعه قرار می‌گیرد. در بخش دیگر مطالعه به تعیین مقادیر گلوکوزینولات‌ها به عنوان شاخص دفاع شیمیایی گیاهان مورد مطالعه پرداخته می‌شود. بنابراین در این پژوهش به اثرات ناشی از این تغییرات و دستکاری‌ها بر سیستم‌های سه گانه تغذیه‌ای پرداخته می‌شود. بنابراین اهداف پژوهش حاضر عبارتند از:

۱- بررسی تاثیر انواع مختلف گیاه کلزا (ارقام زراعی و غیر هیبرید، ارقام هیبرید، جهش یافته و تراریخت) بر کارایی بید کلم در شرایط ثابت آزمایشگاهی

۲- بررسی اثرات انواع مختلف گیاه کلزا (ارقام زراعی و غیر هیبرید، ارقام هیبرید، جهش یافته و تراریخت) بر کارایی زنبور پارازیتوئید *D. semiclausum*

۳- بررسی و مقایسه وضعیت دفاع شیمیایی گیاهان مختلف کروسیفر در پاسخ به فعالیت گیاهخواری بید کلم

فصل دوم

مروری بر منابع

(Literature review)

۲- فصل دوم : مروری بر مطالعات انجام شده

متخصصین پیش‌بینی می‌کنند که جمعیت جهان در سال ۲۰۵۰ به ۱۲ میلیارد برسد. تامین غذای این جمعیت وظیفه سنگینی است که بخش بزرگی از آن بر عهده به‌نژادگران است (زبرجدی و همکاران، ۱۳۸۵).

با توجه به اهمیت گیاهان در تغذیه انسان، بشر سالیان سال در تلاش بوده تا با کشت و زرع گیاهان وحشی موجود در طبیعت روند اهلی سازی آن‌ها را تسریع بخشد. پس از روند اهلی سازی و تبدیل گیاهان وحشی به گیاهان زراعی دستیابی به گیاهانی با مجموعه‌ای از صفات مطلوب از بزرگترین اهداف بشر بوده است. به عنوان مثال دستیابی به گیاهانی با عملکرد و ارزش غذایی بالا، کیفیت بالای پروتئین و ویتامین‌ها و نیز سایر صفات رویشی مطلوب، انسان را به تغییر و دستکاری‌های ژنتیکی در گیاهان وا داشته است (Gols *et al*., 2008a, b). تولید انواع ژنوتیپ‌های گیاهی نمونه‌ی بارزی از تغییرات ژنتیکی است که توسط انسان در گیاهان صورت گرفته است. ایجاد گیاهان هیبرید که نسبت به والدین خود عملکرد بالاتری دارند، استفاده از تکنیک-های اصلاحی و ژنتیکی به منظور ایجاد گیاهان تراریخت و نیز پرتودهی گیاهان با اشعه گاما برای تولید گیاهانی با صفات خاص، همگی مثال‌هایی از این دستکاری‌ها می‌باشند. این تغییرات ژنتیکی همواره به طور مستقیم و یا غیر مستقیم ساختار شیمیایی گیاهان را تحت تاثیر قرار می‌دهد. به عنوان مثال بسیاری از این دستکاری‌ها با کاهش میزان متابولیت‌های ثانویه گیاه همراه هستند. به طور کلی، دستکاری‌های ژنتیکی صورت گرفته در گیاهان به صورت تغییر در میزان متابولیت‌های اولیه و ثانویه نمود پیدا کرده است و این تغییر ساختار شیمی گیاه متعاقبا بر نشو و نمای حشرات مرتبط با آن‌ها تاثیر می‌گذارد (Harvey *et al*., 2003; Ode, 2006). تیره گیاهی کروسیفر (Brassicaceae)، که شامل محصولات مهمی از جمله کلزا، کلم، بروکلی، شلغم و خردل می‌باشد، یک تیره گیاهی مناسب برای بررسی روند این تغییرات است (Gols *et al*., 2008a, b). گیاهان این خانواده دارای ترکیبات ثانویه مهمی به نام گلوکوزینولات‌ها هستند و مطالعات نشان می‌دهند که تغییر میزان این ترکیبات ارتباط مهمی با دستکاری‌های صورت گرفته در این گیاهان دارد

(Gols *et al*., 2008a, b; Hopkins *et al*., 2009). در این پژوهش به اثرات ناشی از این تغییرات و دستکاری‌ها بر سیستم‌های سه گانه تغذیه‌ای پرداخته می‌شود.

۲-۱ گیاه شناسی کلزا

کلزا گیاهی روغنی با نام علمی *Brassica napus* L. و از تیره کروسیفر یا چلیپائیان (Brassicaceae) است که در زبان انگلیسی Rapeseed و در زبان فرانسه Colza نامیده می‌شود. کلزا یک گونه آمفی دیپلوئید طبیعی حاصل از تلاقی گونه شلغم روغنی (*Brassica rapa* L.) و کلم (*Brassica oleraceae* L.) و دو برابر شدن کروموزوم‌های هیبرید حاصل بوجود آمده است (شریعتی و قاضی شهنی زاده، ۱۳۷۹). مبدا آن جنوب شرقی آسیا است. روغن کلزا در مقایسه با سایر روغن‌ها حاوی کمترین میزان چربی‌های اشباع شده (۷ ٪) است و به همین دلیل بیشترین کاربرد را در تامین روغن خوراکی مردم کشورهای مختلف دارد. یکی از اهداف اصلاحی در کلزا، افزایش میزان روغن در این گیاه و همچنین بهبود کیفیت روغن و کنجاله می‌باشد. بذور دانه‌های روغنی کلزا برای دو هدف اصلی روغن و کنجاله استفاده می‌شود. روغن برای تغذیه انسان یا مصارف صنعتی استفاده می‌شود و کنجاله که سرشار از پروتئین است می‌تواند برای مصارف دام یا به عنوان کود استفاده شود. کیفیت روغن کلزا توسط ترکیب اسیدهای چرب آن و نیز عوامل ضد تغذیه‌ای آن به خصوص گلوکوزینولات‌ها و نسبت پروتئین و فیبر تعیین می‌شود. با توجه به اهمیت تولید روغن خوراکی گیاهی در هر کشور و افزایش سطح زیر کشت این محصول در ایران و مناسب بودن کلزا برای آفت بید کلم انتظار آن می‌رود که در آینده‌ای نزدیک این آفت به یکی از معضلات اساسی تولید محصول کلزا تبدیل گردد. در ارقام جدید کلزا میزان گلوکوزینولات‌ها و اسید اروسیک که باعث طعم تند و بوی زننده آن می‌شود، به حداقل رسیده است. اسید اروسیک یک اسید چرب با زنجیره بلند حاوی یک پیوند دوگانه است که می‌تواند بر انسان و حیوانات اثر سمی داشته باشد (باقری و همکاران، ۱۳۸۹: زبرجدی و همکاران، ۱۳۸۵).

۲-۱-۱ گلوکوزینولات‌ها

گلوکوزینولات‌ها متابولیت‌های ثانویه‌ای هستند که به دلیل حضور آن‌ها در گیاهان مهمی مانند کلم، بروکلی و کلزا به خوبی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. تاکنون حداقل ۱۲۰ نوع گلوکوزینولات مختلف شناسایی شده است که اکثر آن‌ها در گیاهان خانواده کروسیفر (Brassicaceae) وجود دارند (Fahey *et al*., 2001). ساختار اولیه همه گلوکوزینولات‌ها از سه قسمت تشکیل شده است: بخش بتا- تیوگلوکز، بخش اوکسیم سولفاته و یک زنجیره قابل تغییر. گلوکوزینولات‌ها عموماً بر پایه اسید آمینه‌ای که در زنجیره جانبی قابل تغییر آن‌ها قرار دارد، گروه‌بندی می‌شوند. گلوکوزینولات‌های ایندول که حدود ۱۰ درصد از گلوکوزینولات‌ها را شامل می‌شوند و از اسید آمینه تریپتوفان مشتق می‌شوند، گلوکوزینولات‌های خطی که حدود ۵۰ درصد از گلوکوزینولات‌ها را شامل می‌شوند و از اسید آمینه متیونین مشتق شده‌اند و گلوکوزینولات‌های آروماتیک که از اسید آمینه-های فنیل آلانین و تیروزین ساخته می‌شوند (Fahey *et al*., 2001; Mithen, 2001). در هر گروه ساختارهای قابل تغییر اضافی از طریق تغییر در طول زنجیره، اکسیداسیون و هیدروکسیلاسیون در زنجیره جانبی به‌دست می‌آید (Grubb and Abel, 2006; Halkier and Gershenzon, 2006; Wittstock and Halkier, 2002).

وقتی که یک بافت گیاهی توسط یک حشره آسیب می‌بیند، گلوکوزینولات‌هایی که در واکوئل‌ها ذخیره شده-اند، با آنزیم میروسیناز وارد واکنش می‌شوند. در نتیجه فعالیت میروسیناز، گلوکز و سولفات آزاد شده و چندین ترکیب سمی و تند مانند ایزوتیوسیونات‌ها، نیتریل و غیره تشکیل می‌شوند. ترکیبات شیمیایی تولید شده توسط این واکنش‌ها عمدتاً به زنجیره جانبی، pH، غلظت یون آهن و حضور یک سری از پروتئین‌ها بستگی دارد (Burow *et al*., 2006; Lambrix *et al*., 2001; Hopkins *et al*., 2009). به عنوان مثال گلوکوزینولات‌های ایندول فقط تولید نیتریل و ایزوتیوسیونات‌های ناپایدار می‌کنند که خیلی سریع به ایندوکاربینول‌های غیر فرار تبدیل می‌شوند (Bones and Rossiter, 2006; Burow *et al*., 2006; de Vos *et al*., 2005; Mithen, 2001). همچنین، گلوکوزینولات‌های خطی تولید ایزوتیوسیانات‌های معطر و تند می-

کنند. به هرحال، ایزوتیوسیونات‌ها در pH خنثی تولید شده و این نوع از گلوکوزینولات‌ها در pH پایین تولید نیتریل می‌کنند. حتی یک تغییر کوچک (مانند اضافه شدن یک گروه اضافه هیدروکسی به کربن شماره ۲) در ساختار گلوکوزینولات‌ها می‌تواند فعالیت بیولوژیک آن‌ها را متفاوت کند. به عنوان مثال، یک تغییر ساده در گروه سولفیدی gluconasturtiin آن‌را به glucobarbarin تبدیل می‌کند که به طور معنی‌داری می‌تواند زندگی شب‌پره *Mamestra brassicae* (L.) را تحت تاثیر قرار دهد. این حشره می‌تواند به خوبی در گیاه *Barbarea vulgaris* L. که حاوی gluconasturtiin است، تغذیه کند و زنده بماند، اما لاروها در گیاهانی که glucobarbarin دارند زنده نمی‌مانند (van Leur *et al*., 2008). این موضوع نشان می‌دهد که برای یک گیاه خوار عمومی حضور یک هیدروکسیل می‌تواند تفاوت مرگ و زندگی باشد.

۲-۲ بید کلم

بید کلم (Diamondback moth) با نام علمی *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) مخرب‌ترین آفت تیره گیاهی کروسیفر در سراسر دنیا می‌باشد. هزینه سالانه مدیریت آن حدود یک میلیارد دلار تخمین زده شده است (Talekar and Shelton, 1993; Verkerk and Wright, 1996). به تنهایی در کالیفرنیا در سال ۱۹۹۷ ارزش کاهش محصول کلم بروکلی و سایر کروسیفرها بر اثر طغیان بید کلم بیش از شش میلیون دلار برآورد شده است (Shelton *et al*., 2000). لاروهای این حشره از گیاهان خانواده کروسیفر (Brassicaceae) شامل کلزا، خردل، کلم برگ، کلم گل، کلم بروکسل، تربچه، شلغم و محصولات دیگر تغذیه می‌کنند. لاروها روی گیاه کلزا، برگ‌ها، جوانه‌ها، گل‌ها و غلاف بذر را مورد تغذیه قرار می‌دهند (Talekar and Shelton, 1993). این حشره همچنین از روی دیگر تیره‌های گیاهی همچون خانواده Fabaceae، تیره Chenopodiace و تیره Malvaceae گزارش شده است (Talekar *et al*., 1985; Lohr and Rossbach, 2004). شب‌پره‌های کامل یک ترکیب مناسبی از علائم شیمیایی و مورفولوژیک را برای پیدا کردن و تشخیص گیاه میزبان به کار می‌گیرند. تغذیه این حشره به‌وسیله بسیاری از گلوکوزینولات‌ها تحریک می‌شود اما برخی

از ترکیبات گلوکوزینولات‌ها در غلظت‌های بالا برای این حشره سمی هستند (Sarfraz *et al*., 2007; Gols *et al*., 2008b, c). گلوکوزیدهای sinigrin، sinalbin و glucocheirolin به عنوان محرک‌های تغذیه اختصاصی برای بید کلم عمل می‌کنند. بید کلم گونه‌های گیاهی محتوی یک یا بیشتر این ترکیبات شیمیایی را به عنوان میزبان خود برمی‌گزینند. گیاهان غیر میزبان نیز ممکن است این ترکیبات را داشته باشند ولی آن‌ها محتوی ترکیبات بازدارنده یا سموم نیز هستند. ترکیبات شیمیایی خاصی از قبیل گلوکوزینولات‌های محتوی گوگرد یا متابولیت‌های آن و آلیل ایزوتیوسیانات‌ها در گیاهان خانواده کروسیفر وجود داشته و به عنوان محرک‌های تخمریزی این حشره عمل می‌کنند. گیاهان فاقد گوگرد برای تخمریزی این شب‌پره جلب کننده نیستند (Gupta and Thorsteinson, 1960). فعالیت گلوکوزینولات‌ها به وسیله آنزیم‌های myrosinase و یا sulphatase که مسئول تجزیه گلوکوزینولات‌ها هستند، از بین می‌رود.

استفاده گسترده از سموم شیمیایی علیه این آفت منجر به مقاومت آن در برابر حشره‌کش‌های مصنوعی و حتی میکروبی مانند Bt شده است (Talekar and Shelton, 1993). مقاومت بید کلم به آفت‌کش‌های مختلف و عدم وجود حشره‌کش‌های موثر جدید، تحقیق روی سایر روش‌های کنترل به ویژه مدیریت تلفیقی این آفت را برانگیخته است. از آن‌جایی‌که پارازیتوئیدها نقش محوری در تنظیم جمعیت‌های این آفت دارند، واردسازی، حفاظت و حمایت از آن‌ها پایه و اساس هر برنامه مدیریت تلفیقی(IPM) مناسب خواهد بود (Talekar and Shelton, 1993).

۲-۳ زنبور پارازیتوئید *Diadegma semiclausum*

زنبور پارازیتوئید *Diadegma semiclausum* Helen (Hymenoptera: Ichneumonidae) پارازیتوئید انفرادی لارو-پیش‌شفیره بید کلم (چون لارو پارازیته شده پیله را تشکیل می‌دهد لارو-شفیره نیز نامیده می‌شود)، از عوامل کنترل بیولوژیک موثر بید کلم به شمار می‌رود (Talekar and Shelton, 1993). در سرتاسر جهان، موثرترین پارازیتوئیدهای لاروی متعلق به دو جنس بزرگ *Diadegma* و *Cotesia* می‌باشند (Lim, 1986).

جنس *Diadegma* گروه بزرگی از زنبورهای پارازیتوئید با ۲۰۱ گونه شناخته شده در دنیا می‌باشد. در بین میزبان‌های بالقوه گونه‌های این جنس، بید کلم به عنوان یکی از آفات بسیار مخرب محصولات کروسیفر مورد توجه می‌باشد. بر همین اساس برخی از گونه‌های این زنبور از جمله *D. insulare* و *D. semiclausum* اهمیت اقتصادی بالایی در کنترل بیولوژیک این آفت دارند. اهمیت گونه‌های جنس *Diadegma* به عنوان عوامل بیوکنترل علاقه و انگیزه بالایی را در محققین ایجاد کرده است (Lill and Marquis, 2001).

۲-۴ نقش گیاه میزبان بر کارایی حشرات گیاهخوار و پارازیتوئیدها

کیفیت و کمیت گیاه میزبان دو شاخص مهم برای سازگاری حشرات گیاهخوار محسوب می‌شود که به صورت بالقوه بر بقای افراد نابالغ و تولید مثل افراد بالغ منتج از آن‌ها تاثیر می‌گذارند (Moreau *et al*., 2006). اگر چه حشرات گیاهخوار اختصاصی بیشتر از حشرات عمومی قادر به سازگاری با متابولیت‌های ثانویه سمی گیاهان میزبان خود هستند (Cornell and Hawkins, 2003)، ولی مشهود است که کیفیت غذایی گیاهان بر هر دو گروه حشرات اختصاصی و عمومی موثر می‌باشد (Coley *et al*., 2006). سیکل زندگی، نشو و نما، بقا، تولید مثل، نسبت جنسی و پارامترهای جدول زندگی حشرات تحت تاثیر کیفیت گیاه میزبان در زمان تغذیه مرحله لاروی می‌باشد (Kim and Lee, 2002; Liu *et al*., 2004; Yin *et al*., 2008). نشو و نما و تولید مثل بید کلم نیز تحت تاثیر گیاه میزبان و ناحیه جغرافیایی آن می‌باشد (Sarnthoy *et al*., 1989; Shirai, 2000).

نرخ پارازیتیسم در برخی از بالپولکداران بسته به گونه گیاهی تغییر می‌کند (Barbosa *et al*., 2001; Hunter, 2003). این تغییر همچنین در زمان تغذیه از ارقام گیاهی متعلق به یک گونه نیز مشاهده شده است. Sarfraz *et al*. (2008) تاثیر ژنوتیپ‌های مختلف گیاهی میزبان بید کلم را بر کارایی پارازیتوئید لاروی آن *D. insulare* مورد مطالعه قرار دادند. این پژوهشگران دریافتند که زنده مانی و پارازیتیسم زنبور پارازیتوئید در میان ژنوتیپ های گیاهی مورد آزمون به نحو قابل توجهی تغییر می‌کند، بدین ترتیب که این مقادیر برای زنبورهایی که روی لاروهای پرورش یافته روی ژنوتیپ *Sinapis alba* L. فعالیت کردند بیشترین و روی