بسم الله الرحمن الرحيم

تعهدنامه‌ی اصالت اثر و رعایت حقوق دانشگاه

تمامی حقوق مادّی و معنوی مترتب بر نتایج، ابتکارات، اختراعات و نوآوری‌هایِ ناشی از انجام این پژوهش، متعلق به **دانشگاه محقق اردبیلی** می‌باشد. نقل مطلب از این اثر، با رعایت مقرّرات مربوطه و با ذکر نام دانشگاه محقق اردبیلی، نام استاد راهنما و دانشجو بلامانع است.

اینجانب اعظم السادات حسینی نژاد دانش‌آموخته‌ی مقطع کارشناسی ارشد رشته‌ی مهندسی کشاورزی- حشره شناسی کشاورزی دانشکده‌ی علوم کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی به شماره‌ی دانشجویی ۹۰۳۳۳۹۳۱۰۷ که در تاریخ ۱۳۹۲/۷/۲۹ از پایان‌نامه‌ی تحصیلی خود تحت عنوان مقایسه شاخص‌های تغذیه‌ای و فعالیت پروتئولیتیک و آمیلولیتیک گوارشی *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) روی هیبریدهای مختلف ذرت
دفاع نموده‌ام، متعهد می‌شوم که:

۱) این پایان‌نامه را قبلاً برای دریافت هیچ‌گونه مدرک تحصیلی یا به عنوان هرگونه فعالیت پژوهشی در سایر دانشگاه‌ها و مؤسسات آموزشی و پژوهشی داخل و خارج از کشور ارائه ننموده‌ام.
۲) مسئولیت صحّت و سقم تمامی مندرجات پایان‌نامه‌ی تحصیلی خود را بر عهده می‌گیرم.
۳) این پایان‌نامه، حاصل پژوهش انجام شده توسط اینجانب می‌باشد.
۴) در مواردی که از دستاوردهای علمی و پژوهشی دیگران استفاده نموده‌ام، مطابق ضوابط و مقرّرات مربوطه و با رعایت اصل امانتداری علمی، نام منبع مورد استفاده و سایر مشخصات آن را در متن و فهرست منابع و مآخذ ذکر نموده‌ام.
۵) چنانچه بعد از فراغت از تحصیل، قصد استفاده یا هر گونه بهره‌برداری اعم از نشر کتاب، ثبت اختراع و ... از این پایان‌نامه را داشته باشم، از حوزه‌ی معاونت پژوهشی و فنّاوری دانشگاه محقق اردبیلی، مجوزهای لازم را اخذ نمایم.
۶) در صورت ارائه‌ی مقاله‌ی مستخرج از این پایان‌نامه در همایش‌ها، کنفرانس‌ها، سمینارها، گردهمایی‌ها و انواع مجلات، نام دانشگاه محقق اردبیلی را در کنار نام نویسندگان (دانشجو و اساتید راهنما و مشاور) ذکر نمایم.
۷) چنانچه در هر مقطع زمانی، خلاف موارد فوق ثابت شود، عواقب ناشی از آن (منجمله ابطال مدرک تحصیلی، طرح شکایت توسط دانشگاه و ...) را می‌پذیرم و دانشگاه محقق اردبیلی را مجاز می‌دانم با اینجانب مطابق ضوابط و مقرّرات مربوطه رفتار نماید.

نام ونام خانوادگی دانشجو: اعظم السادات حسینی نژاد

امضا

تاریخ

دانشکده‌ی علوم کشاورزی

گروه آموزشی گیاهپزشکی

پایان‌نامه برای دریافت درجه‌ی کارشناسی ارشد

در رشته‌ی مهندسی کشاورزی- حشره شناسی کشاورزی

عنوان:

مقایسه شاخص‌های تغذیه‌ای و فعالیت پروتئولیتیک و آمیلولیتیک گوارشی *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) روی هیبریدهای مختلف ذرت

اساتید راهنما:

دکتر بهرام ناصری

دکتر قدیر نوری قنبلانی

اساتید مشاور:

دکتر جبرائیل رزمجو

دکتر عباسعلی نوری نیا

پژوهشگر:

اعظم السادات حسینی نژاد

مهر ۱۳۹۲

دانشکده‌ی علوم کشاورزی

گروه آموزشی گیاهپزشکی

پایان‌نامه برای دریافت درجه‌ی کارشناسی ارشد

در رشته‌ی مهندسی کشاورزی- حشره شناسی کشاورزی

عنوان:

مقایسه شاخص‌های تغذیه‌ای و فعالیت پروتئولیتیک و آمیلولیتیک گوارشی *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) روی هیبریدهای مختلف ذرت

پژوهشگر:

اعظم السادات حسینی نژاد

ارزیابی و تصویب شده‌ی کمیته‌ی داوران پایان‌نامه با درجه‌ی .....

نام و نام خانوادگی	مرتبه‌ی علمی	سمت	امضاء
دکتر بهرام ناصری	استادیار	استاد راهنما و رییس کمیته‌ی داوران	
دکتر قدیر نوری قنبلانی	استاد	استاد راهنما	
دکتر جبرائیل رزمجو	دانشیار	استاد مشاور	
دکتر عباسعلی نوری نیا	استادیار	استاد مشاور	
دکتر مهدی حسن پور	استادیار	داور	

مهر ۱۳۹۲

نام خانوادگی دانشجو: **حسینی نژاد** نام: **اعظم السادات**

عنوان پایان‌نامه: **مقایسه شاخص‌های تغذیه‌ای و فعالیت پروتئولیتیک و آمیلولیتیک گوارشی *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) روی هیبریدهای مختلف ذرت**

اساتید راهنما: دکتر بهرام ناصری - دکتر قدیر نوری قنبلانی

اساتید مشاور: دکتر جبرئیل رزومجو - دکتر عباسعلی نوری نیا

مقطع تحصیلی: **کارشناسی ارشد** رشته: مهندسی کشاورزی - حشره شناسی کشاورزی دانشگاه: **محقق اردبیلی**

دانشکده: علوم کشاورزی تاریخ دفاع: ۱۳۹۲/۷/۲۹ تعداد صفحات:۶۳

چکیده: *Helicoverpa armigera* (Hübner) آفت بسیاری از محصولات کشاورزی در ایران و کشورهای مختلف جهان است. این گونه دارای دامنه‌ی میزبانی وسیع و یکی از عوامل محدود کننده تولید ذرت می باشد. این تحقیق با هدف بررسی وضعیت تغذیه‌ای و فعالیت پروتئولیتیک و آمیلولیتیک گوارشی *H. armigera* در واکنش به تغذیه از یازده هیبرید ذرت شامل K19 * K47/2-2-1-22-1-1-1، K3615/2 * K3547/3، MO17 * K3653/2، K3615/2 * K19/1، KSC705، K19/1 * KLM77002/10-1-1-1-1-6-1، A679 * K47/22-1-22-1-1-1، K48/3-1-1-3-2-1-1-1 K18 *، MO17 * KLM78018/6-1-1-1-3-2، KSC720 و KSC704، در دمای ۱±۲۵ درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انجام شد. نتایج حاصل از شاخص‌های تغذیه-ای بر حسب وزن خشک نشان داد که بیشترین درصد بازدهی تبدیل غذای بلعیده شده (ECI) و بازدهی تبدیل غذای هضم شده (ECD) مربوط به لاروهای پرورش یافته روی هیبرید KLM78 * MO17 (به ترتیب ۰/۱۰±۴/۹۰ و ۰/۱۰±۶/۴۰ درصد) بود. کمترین درصد بازدهی تبدیل غذای بلعیده شده مربوط به تغذیه لاروها روی هیبریدهای K36 * K35 (۰/۰۸±۱/۸۰ درصد) و K36 * MO17 (۰/۰۹±۱/۷۰ درصد) و کمترین درصد بازدهی تبدیل غذای هضم شده مربوط به تغذیه لاروها روی هیبرید K35 * K36 (۰/۰۹±۲/۱۰ درصد) بود. بیشترین فعالیت پروتئولیتیک کل لارو سن چهارم مربوط به هیبرید KSC705 (۰/۲۴±۴/۸۵ واحد بر میلی‌گرم) و کمترین آن مربوط به هیبرید A67 * K47 (۰/۱۹±۱/۳۴ واحد بر میلی‌گرم) بود. در سن پنجم لاروی بیشترین فعالیت پروتئولیتیک کل مربوط به تغذیه لاروها از هیبرید K19 * K47 (۰/۰۶±۸/۳۸ واحد بر میلی‌گرم) و کمترین آن مربوط به تغذیه لاروها از هیبرید K18 * K48 (۰/۰۳±۰/۲۴ واحد بر میلی‌گرم) بود. بیشترین فعالیت آمیلازی در سن چهارم مربوط به لاروهای پرورش یافته روی هیبرید MO17 * K36 (۰/۰۴±۱/۱۷ واحد بر میلی‌گرم) و کمترین آن مربوط به لاروهای تغذیه کرده روی هیبریدهای K18 * K48 (۰/۰۰۶±۰/۴۵ واحد بر میلی‌گرم) و MO17 * KLM78 (۰/۰۳±۰/۴۲ واحد بر میلی‌گرم) بودند. در سن پنجم لاروی بیشترین فعالیت آمیلازی روی هیبرید A67 * K47 (۰/۴۷±۴/۴۹ واحد بر میلی‌گرم) و کمترین آن روی هیبرید K18* K48 (۰/۰۰۳±۰/۵۴ واحد بر میلی‌گرم) بدست آمد. نتایج حاصل از بررسی شاخص‌های تغذیه‌ای و فعالیت آنزیم‌های گوارشی *H. armigera* روی هیبریدهای مختلف ذرت نشان داد که MO17،KSC705 * KLM78018/6-1-1-1-3-2 و K18 * K48/3-1-1-3-2-1-1-1 مناسب‌ترین هیبریدها و K3615/2 K19/1 *، KSC720، K19/1 * KLM77002/10-1-1-1-1-6-1 و A679 * K47/22-1-22-1-1-1 نامناسب‌ترین هیبریدها برای آفت بوده اند.

کلید واژه‌ها: *Helicoverpa armigera*، شاخص‌های تغذیه‌ای، آنزیم‌های گوارشی، هیبریدهای مختلف ذرت

فهرست مطالب

شماره و عنوان مطالب **صفحه**

فصل اول: کلیات پژوهش

۱-۱- مقدمه..... ۲

۱-۲- سطح زیر کشت ذرت در کشور ایران ۵

۱-۳- آفات ذرت ۶

۱-۳-۱- *H. armigera* ۶

۱-۳-۱-۱- جایگاه *H. armigera* در رده بندی حشرات ۶

۱-۳-۱-۲- مناطق انتشار *H. armigera* ۶

۱-۳-۱-۳- دامنه‌ی میزبانی و نحوه خسارت *H. armigera* ۷

۱-۳-۱-۴- کنترل *H. armigera*. ۸

۱-۴- شاخص های تغذیه‌ای ۹

۱-۵- آنزیم های گوارشی ۱۰

۱-۵-۱- آنزیم های گوارشی پروتئاز ۱۰

۱-۵-۲- آنزیم های گوارشی آمیلاز ۱۲

فصل دوم: مواد و روش پژوهش

۲-۱- تهیه و کاشت گیاه میزبان ۱۵

۲-۲- پرورش *H. armigera* ۱۷

۲-۳- اندازه‌گیری شاخص‌های تغذیه‌ای *H. armigera* ۲۰

۲-۴- تهیه بافر ۲۱

۲-۵- تهیه عصاره آنزیمی از روده میانی ۲۱

۲-۶- بررسی فعالیت گوارشی پروتئولیتیک *H. armigera* ۲۲

۲-۷- تعیین فعالیت آمیلولیتیک *H. armigera* ۲۲

۲-۸- محاسبه‌ی شاخص رشد لارو، شاخص رشد استاندارد، شاخص قابلیت زیستی *H. armigera* ۲۳
۲-۹-تجزیه کلاستر شاخص‌های تغذیه‌ای و فعالیت آنزیم‌های گوارشی پروتئاز کل و آمیلاز، *H. armigera* ۲۴
۲-۱۰- تجزیه و تحلیل داده‌ها ۲۴

فصل سوم: نتایج و یافته‌های پژوهش

۳-۱- شاخص‌های تغذیه‌ای *H. armigera* روی یازده هیبرید ذرت بر حسب وزن خشک ۲۶
۳-۲- مقایسه وزن غذای خورده شده (میلی گرم)، وزن فضولات تولید شده (میلی گرم) و افزایش وزن لاروهای سن چهارم (میلی گرم) *H. armigera* روی یازده هیبرید ذرت بر حسب وزن خشک..... ۳۰
۳-۳- مقایسه وزن غذای خورده شده (میلی گرم)، وزن فضولات تولید شده (میلی گرم) و افزایش وزن لاروهای سن پنجم (میلی گرم) *H. armigera* روی یازده هیبرید ذرت بر حسب وزن خشک ۳۲
۳-۴- مقایسه وزن غذای خورده شده (میلی گرم)، وزن فضولات تولید شده (میلی گرم) و افزایش وزن مجموع سنین لاروی چهارم و پنجم (میلی گرم)، *H. armigera* روی یازده هیبرید ذرت بر حسب وزن خشک ۳۳
۳-۵- مقایسه وزن لارو در طول دوره، وزن پیش شفیره و وزن شفیره‌ی (میلی گرم) *H. armigera* روی یازده هیبرید ذرت بر حسب وزن خشک ۳۴
۳-۶- فعالیت پروتئولیتیک و آمیلولیتیک گوارشی *H. armigera* در واکنش به تغذیه از یازده هیبرید ذرت ۳۵
۳-۷- مقایسه شاخص‌های رشد لاروهای سن چهارم و پنجم *H. armigera* روی یازده هیبرید ذرت..... ۳۶
۳-۸- مقایسه‌ی طول دوره‌ی رشدی (روز) *H. armigera* روی یازده هیبرید ذرت ۳۷
۳-۹- تجزیه کلاستر شاخص‌های تغذیه‌ای و فعالیت آنزیم‌های گوارشی پروتئاز کل و آمیلاز، *H. armigera*:..... ۳۹

فصل چهارم: نتیجه‌گیری و بحث

۴-۱- نتیجه گیری نهایی..... ۵۱
۴-۲- پیشنهادات..... ۵۲
فهرست منابع و مآخذ..... ۵۳

فهرست جدول‌ها

شماره و عنوان جدول **صفحه**

جدول ۲ – ۱:نام هیبرید های ذرت کاشته شده در این پژوهش ۱۵

جدول ۳ – ۱: شاخص های تغذیه ای لاروهای سن چهارم *H. armigera* روی یازده هیبرید ذرت بر حسب وزن خشک ۲۷

جدول ۳ – ۲: شاخص های تغذیه ای لاروهای سن پنجم *H. armigera* روی یازده هیبرید ذرت بر حسب وزن خشک ۲۸

جدول ۳ – ۳: شاخص های تغذیه ای مجموع سنین لاروی چهارم پنجم *H. armigera* روی یازده هیبرید ذرت بر حسب وزن خشک ۳۰

جدول ۳ – ۴: میانگین (±خطای معیار) وزن غذای خورده شده (میلی گرم)، وزن فضولات تولید شده (میلی گرم) و افزایش وزن لاروهای سن چهارم (میلی گرم) *H. armigera* روی یازده هیبرید ذرت بر حسب وزن خشک ۳۱

جدول ۳ – ۵: میانگین (±خطای معیار) وزن غذای خورده شده (میلی گرم)، وزن فضولات تولید شده (میلی گرم) و افزایش وزن لاروهای سن پنجم (میلی گرم) *H. armigera* روی یازده هیبرید ذرت بر حسب وزن خشک ۳۲

جدول ۳ – ۶: میانگین (±خطای معیار) وزن غذای خورده شده (میلی گرم)، وزن فضولات تولید شده (میلی گرم) و افزایش وزن مجموع سنین لاروی چهارم و پنجم (میلی گرم)، *H. armigera* روی یازده هیبرید ذرت بر حسب وزن خشک ۳۳

جدول ۳ – ۷: میانگین(± خطای معیار) وزن لارو در طول دوره ، وزن پیش شفیره و وزن شفیره‌ی(میلی گرم) *H. armigera* روی یازده هیبرید ذرت بر حسب وزن خشک ۳۵

جدول ۳ – ۸: میانگین (± خطای معیار) فعالیت پروتئولیتیک و آمیلولیتیک گوارشی لاروهای سن چهارم و پنجم *H. armigera* در واکنش به تغذیه از یازده هیبرید ذرت ۳۶

جدول ۳ – ۹: میانگین (± خطای معیار) طول دوره‌ی رشد ی قبل از بلوغ (روز) از ابتدای ظهور لارو های سن چهارم *H. armigera* روی یازده هیبرید ذرت ۳۷

جدول ۳ – ۱۰: شاخص‌های رشد لاروهای سن چهارم و پنجم *H. gera* روی یازده هیبرید ذرت ۳۸

فهرست شکل‌ها

شماره و عنوان شکل **صفحه**

شکل ۲ – ۱: مراحل رشد ذرت کشت شده در مزرعه.....۱۶

شکل ۲ – ۲: مراحل مختلف رشدی *H. armigera* ۱۸

شکل۲ – ۳: ظروف پرورش *H. armigera* ۱۹

شکل ۳-۴: دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر هیبریدهای مختلف ذرت بر مبنای شاخص‌های تغذیه‌ای سنین چهارم و پنجم بر حسب وزن خشک و فعالیت آنزیم‌های گوارشی عصاره‌ی روده‌ی میانی لارو *H. armigera* ۳۹

فصل اول:

کلیات پژوهش

۱-۱- مقدمه

ذرت، *Zea mays* L.، گیاهی تک لپه‌ای، یک ساله و یک پایه از تیره گرامینه می‌باشد. دانه ذرت نه تنها از لحاظ تامین انرژی اهمیت دارد، بلکه علوفه سبز آن نیز از کیفیت بالایی برخوردار بوده و قابل سیلو کردن است. تقریبا، از همه قسمت‌های مختلف ذرت شامل دانه، ساقه، برگ، چوب بلال، پوست بلال و ابریشم بلال استفاده‌های مختلفی می‌شود. به دلیل اهمیت این گیاه در تغذیه انسان، دام و طیور و مصارف صنعتی، شناسایی موانع موجود در زمینه افزایش تولید این محصول ضروری است (سپهری، ۱۳۸۱). لذا، علاوه بر مسائل تولید بذر و کشت مکانیزه، کنترل آفات و بیماری‌های آن از اهمیت خاصی برخوردار است که لازم است به موازات سایر برنامه‌ها دنبال شود (به نقل از خانجانی، ۱۳۸۷).

یکی از عوامل محدود کننده تولید ذرت، کرم خوشه خوار ذرت، *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae)، می‌باشد. داشتن ویژگی‌های مهمی چون دامنه‌ی میزبانی وسیع (جالوو و زالوکی[1]، ۱۹۹۶)، قدرت تحرک زیاد از طریق پرواز (دریک[2]، ۱۹۹۱)، باروری زیاد و داشتن دیاپوز اختیاری در *H. armigera* ، امکان زنده‌مانی در زیستگاه‌های ناپایدار و سازگاری با تغییرات فصلی را برای این آفت فراهم می‌کند (فیت[3]، ۱۹۸۹). *H. armigera* از جمله آفات رایج محصولات کشاورزی در ایران (فرید، ۱۹۸۶) و کشورهای مختلف جهان (لیو و همکاران[4]، ۲۰۰۴؛ زالوکی و همکاران[5]، ۱۹۹۴) است. این گونه دارای دامنه‌ی وسیعی از گیاهان میزبان شامل محصولات زراعی و علفهای هرز است. این آفت علاوه بر خسارت مستقیم، باعث آلودگی‌های ناشی از ورود پاتوژن‌ها به داخل اندام‌های مورد تغذیه شده و بدین ترتیب ایجاد خسارت غیر مستقیم نیز می‌کند.

---

[1] . Jallow and Zalucki
[2] . Drake
[3] . Fitt
[4] . Liu *et al.*
[5] . Zalucki *et al.*

در کنترل *H. armigera*، روش‌های بیولوژیک، زراعی، شیمیایی و استفاده از ارقام مقاوم کاربرد دارند. چند نسلی بودن، همپوشانی نسل‌ها و طیف میزبانی وسیع باعث عدم کنترل موفقیت آمیز این آفت شده است. کاربرد بی‌رویه سموم شیمیایی منجر به ایجاد خطرات زیست محیطی و مقاومت آفات مختلف نظیر *H. armigera* به آفتکش‌ها به ویژه پایرتروئیدهای مصنوعی شده است (گونینگ و همکاران[1]، ۱۹۸۴). وجود چنین خطراتی در اکوسیستم در کنار زیان‌های ناشی از کاربرد ناصحیح آفتکش‌های مصنوعی و بالا رفتن احتمال ایجاد مسمومیت حاد و مزمن در انسان، گرایش قابل توجهی را در تغییر راهبردهای مدیریتی آفات ایجاد کرده است (ناصری و همکاران، ۲۰۰۹). امروزه استفاده از ارقام مقاوم به عنوان یکی از موثرترین روش ها جهت کنترل آفات در محصولات مختلف محسوب می شود و استفاده از ارقام مقاوم در سیستم مدیریت تلفیقی آفات (IPM) مزایای زیادی دارد (پاندا و خوش[2]، ۱۹۹۵). مقاومت گیاه میزبان از جمله ابزارهای مهمی است که از لحاظ اقتصادی و سلامت محیط زیست رضایت‌بخش می-باشد (کندی و همکاران[3]،۱۹۸۷).

نشو و نما و باروری حشرات به شدت به کیفیت و کمیت غذای خورده شده توسط حشره بستگی دارد (اسکرایبر و اسلانسکی[4]، ۱۹۸۱). متابولیت‌های اولیه و ثانویه گیاهان میزبان به طور قابل توجهی روی زنده‌مانی، رشد، تولید مثل و افزایش جمعیت حشرات گیاهخوار تاثیر می‌گذارند (برنیز و چاپمن[5]، ۱۹۹۴). برای حشرات با دامنه میزبانی وسیع، میزان دسترسی به گیاهان میزبان مختلف نقش مهمی در افزایش جمعیت و طغیان آنها ایفا می‌کند (سینگ و پاریهار[6]، ۱۹۸۸). با بررسی شاخص های تغذیه‌ای حشره‌ی آفت، اطلاعات جامعی، به منظور تنظیم یک برنامه کامل مدیریت آفات بدست خواهد آمد.

در بین آنزیم‌های گوارشی موثر در هضم مواد غذایی، پروتئازها هضم مواد پروتئینی خورده شده توسط حشره را بر عهده دارند. بسیاری از گیاهان ، بوسیله تولید مهارکننده‌های پروتئاز به تغذیه حشرات

---

[1] . Gunning *et al.*
[2] . Panda and khush
[3] . Kennedy *et al.*
[4] . Scriber and Slansky
[5] . Bernys and Chapman
[6] . Singh and Parihar

واکنش نشان می دهند (ریان[1]، ۱۹۹۰). تصور می شود این مهارکننده‌ها، مانع از فعالیت پروتئازهای گوارشی در دستگاه گوارش لارو بالپولکداران می شوند. ایجاد اختلال در متابولیسم اسیدهای آمینه از طریق مهار هضم پروتئین به عنوان یک هدف کلیدی برای استفاده در کنترل حشرات آفت مدنظر بوده است (هیلدر و همکاران[2]، ۱۹۹۲)، که این امر منجر به کاهش بهره‌برداری از منابع غذایی، تاخیر در نشو و نما، کاهش بقای حشره، اندازه یا وزن و تولید مثل در افراد بالغ نسل جدید و حتی مرگ به علت گرسنگی می‌گردد (گیت‌هاوس و همکاران[3]، ۱۹۹۹). انتقال ژن های رمزگذاری شده‌ی مهارکننده‌های پروتئاز، به منظور تولید گیاهان تراریخته مقاوم استفاده شده است. در تعدادی از موارد این راهبرد موفقیت‌آمیز بوده است (هیلدر و همکاران،۱۹۸۷)، اما در مورد *Helicoverpa* spp.، و بعضی از آفات دیگر تاکنون موفقیتی حاصل نشده است و تحقیقات در این زمینه ادامه دارد.

آمیلازها یکی از مهم ترین آنزیم‌ها در بیوشیمی هضم حشرات از جمله بال پولکداران هستند. همچنین، آمیلازها از مهمترین آنزیم‌های گوارشی در حشراتی هستند که منحصرا از دانه‌های نشاسته‌ای در طول مراحل لاروی یا بلوغ و یا در هر دو مرحله، تغذیه می‌کنند (پرییرا و همکاران[4]،۱۹۹۹). شرایط ویژه در دستگاه گوارش این حشرات سبب اختصاصی شدن و مناسب شدن این آنزیم در هضم بیو شیمیایی شده است (بندانی و همکاران، ۲۰۱۰).

با توجه به اینکه تاکنون تحقیقی در زمینه مقایسه شاخص‌های تغذیه‌ای و فعالیت پروتئولیتیک و آمیلولیتیک گوارشی *H. armigera* روی بلال هیبریدهای مختلف ذرت انجام نشده است و نیز اهمیتی که این حشره در ایجاد خسارت اقتصادی به مزارع ذرت و کاهش محصول دارد، اطلاعات بدست آمده از این تحقیق می‌تواند در کاهش مصرف سموم، کاهش جمعیت آفت در طول زمان و افزایش تولید محصول، مفید باشد. در این پژوهش شاخص‌های تغذیه‌ای و فعالیت آنزیم‌های گوارشی پروتئاز و آمیلاز *H.*

---

[1] . Ryan
[2] . Hilder *et al.*
[3] . Gatehouse *et al.*
[4] . Pereira *et al.*

armigera ، جهت درک بهتر فیزیولوژی گوارش و تعیین میزان حساسیت یا مقاومت هیبریدهای مختلف ذرت بررسی شدند. با تلفیق اطلاعات به دست آمده از این تحقیق و یافته‌های حاصل از تحقیقات دیگر، امکان طراحی و ارائه برنامه‌های علمی دقیق و جامع به منظور مدیریت *H. armigera* فراهم خواهد شد.

اهداف اصلی این پژوهش عبارت بودند از:

۱- بررسی شاخص‌های تغذیه‌ای *H. armigera*، در واکنش به تغذیه از بلال هیبریدهای مختلف ذرت.

۲- بررسی تأثیر هیبریدهای مختلف ذرت بر فیزیولوژی آنزیم‌های گوارشی پروتئاز و آمیلاز *H. armigera*.

۱-۲- سطح زیر کشت ذرت در کشور ایران

دانه ذرت ماده غذایی ارزشمندی برای انسان است و در تغذیه دام و طیور نیز بصورت دانه، علوفه سبز و سیلو مصرف می‌شود. فرآورده‌های حاصل از ذرت به بیش از ۵۰۰ نوع می رسد. در صورت مناسب بودن شرایط، یک دانه قادر است گیاهی تولید کند که ۴۰۰ تا ۱۰۰۰ عدد دانه تولید کند و این در حالی است که فقط ۹۰۰۰۰ عدد بذر جهت کشت در یک هکتار مورد نیاز است. ذرت می تواند در محدوده وسیعی از شرایط آب و هوایی مناطق مختلف رشد کرده و عملکرد خوبی داشته باشد (میرشکاری،۱۳۸۰). از حدود ۱۲ میلیون هکتار سطح محصولات برداشت شده در سال زراعی ۹۰-۱۳۸۹، حدود ۸/۸ میلیون هکتار معادل ۷۳/۱ درصد به غلات اختصاص داشت. محصولات گندم ۷۲/۴ درصد، جو ۱۸ درصد، شلتوک ۶/۵ درصد و ذرت دانه‌ای ۳ درصد سهم در سطح برداشت غلات را داشتند. سطح ذرت دانه‌ای کشور در این سال حدود ۲۶۵ هزار هکتار برآورد شده است. بیشترین سطح برداشت ذرت دانه ای در کشور با ۳۸/۲ درصد به استان خوزستان متعلق می‌باشد. استان‌های فارس، کرمانشاه، کرمان و اردبیل مقام های دوم تا پنجم را به خود اختصاص داده‌اند. تولید ذرت دانه‌ای در کشور حدود ۱/۹ میلیون تن برآورد شده است (بی نام، ۱۳۹۲).

۱-۳- آفات ذرت

از مهمترین آفات ذرت در ایران می توان به کرم طوقه بر *Agrotis segetum* (Schiff)، کرم برگخوار ذرت *Spodoptera exigua* (Hübner)، شب پره تک نقطه ای ذرت *Mythimna loreyi* (Duponchel)، کرم ساقه خوار ذرت *Sesamia cretica* (Lederer)، کرم خوشه خوار ذرت *Helicoverpa armigera* (Hübner)، کرم ساقه خوار اروپایی ذرت *Pyrausta nubilalis* (Hübner)، کرم ریشه خوار ذرت *Duponchelia fovealis* (Zeller)، کرم دانه خوار ذرت *Sathrobota simplex* (Walsingham)، زنجرک ذرت *Laodelpha striatellus* (Fallen)، شته ذرت *Rhopalosiphum maidis* (Fitch) و تریپس ذرت *Anaphothrips* spp.، اشاره کرد (به نقل از خانجانی، ۱۳۸۷).

۱-۳-۱- کرم خوشه خوار ذرت *H. armigera*

۱-۳-۱-۱- جایگاه *H. armigera* در رده بندی حشرات (بورور[1]، ۱۹۹۱).

Order: Lepidoptera
Family: Noctuidae
Genus: *Helicoverpa*
Species: *H. armigera* (Hübner)

۱-۳-۱-۲- مناطق انتشار

این آفت دارای پراکنش وسیع جغرافیایی است (زالوکی و فورلونگ[2]، ۲۰۰۵). از جنوب اروپا و شمال آفریقا به سمت مشرق، و از طریق شبه قاره هند به جنوب شرق آسیا و سپس چین، ژاپن، استرالیا و جزایر اقیانوس آرام انتشار یافته است (رید و پاوار[3]، ۱۹۸۲). در ایران نیز در اغلب نقاط انتشار دارد (فرید، ۱۹۸۶). این آفت در ایران در استان‌های تهران، اردبیل، آذربایجان غربی، خوزستان، فارس، گلستان، کرمان، گرگان، خراسان و مازندران فعالیت دارد. در پژوهشی به منظور شناسایی گونه‌های کرم غوزه‌ی

[1]. Borror
[2]. Zalucki and Furlong
[3]. Reed & Pawar

پنبه و تعیین درصد فراوانی آنها در میزبان‌های زراعی و علف‌های هرز مزارع استان گلستان معلوم شد که دو گونه‌ی *H. armigera* و *Heliothis peltigera* (Schiff) در منطقه وجود دارند که گونه‌ی اول با ۹۸٪ فراوانی جمعیت به عنوان گونه‌ی غالب منطقه بود (درویش مجنی و همکاران، ۱۳۷۹).

۱-۳-۱-۳- دامنه‌ی میزبانی و نحوه خسارت

H. armigera آفتی پلی فاژ بوده (جالوو و زالوکی، ۱۹۹۶) و روی محصولات کشاورزی مختلف تغذیه و تخم ریزی می‌کند. این حشره به بیش از ۶۰ گونه گیاهی متعلق به بیش از ۴۷ تیره گیاهی خسارت زده و از روی محصولاتی مانند سویا، پنبه، ذرت خوشه ای، آفتابگردان، بادام زمینی، لوبیا چشم بلبلی، گوجه فرنگی و فلفل سبز گزارش شده است (زالوکی و همکاران، ۱۹۹۴؛ کریمی و همکاران، ۲۰۱۲).

هر ساله لاروهای این آفت با تغذیه از محصولاتی نظیر پنبه، ذرت، گوجه فرنگی، حبوبات و سبزیجات خسارت قابل توجهی را به کشاورزان تحمیل می‌کنند (سینگ و مولیک[1]، ۱۹۹۷؛ لیو و همکاران، ۲۰۰۴). حشرات ماده‌ی این آفت تخم های خود را به صورت پراکنده بر روی اندام‌های زایشی گیاه قرار می‌دهند (رید و پاوار، ۱۹۸۲). لاروهای *H. armigera* می توانند روی اغلب اندام‌های گیاهی شامل ساقه، برگ، تاج گل و میوه تغذیه کنند. لاروها علاوه بر تغذیه از میوه و سوراخ کردن آن، باعث رشد قارچ مولد دوده یا فوماژین در محل سوراخ شده، موجب فساد میوه‌ها و کاهش بازار پسندی آنها می‌شوند و به این ترتیب با وارد کردن خسارت مستقیم و غیر مستقیم به محصول، کاهش کمیت و کیفیت محصول و خسارت شدید اقتصادی را سبب می‌گردند (مورال گارسیا[2]، ۲۰۰۶).

---

[1] . Singh and Mullick
[2] . Moral Garcia

۱-۳-۱-۴- کنترل

اگرچه حشره کش‌های مصنوعی شامل ارگانوفسفره‌ها، پایرتروئیدهای مصنوعی و ترکیبات کم‌خطر برای محیط زیست روش اصلی برای کنترل کرم خوشه خوار ذرت در نقاط مختلف جهان می‌باشند، اما استفاده گسترده از این آفت‌کش‌ها نگرانی های زیست محیطی و افزایش مقاومت به حشره کش‌ها را ایجاد کرده است. علاوه بر این، اثرات مضر حشره کش‌ها بر موجودات غیر هدف شامل دشمنان طبیعی از جمله علل مهم شیوع این آفت هستند. بنابراین، ابداع یک راهبرد جدید، به منظور مدیریت جمعیت *H. armigera* و کاهش خطرات مواد شیمیایی مصنوعی ضروری است (فتحی پور و صدارتیان، ۲۰۱۳). برای اجرای مدیریتی جامع و یکپارچه به منظور کنترل جمعیت این آفت، شیوه‌های مدیریتی متنوعی باید بکار گرفته شوند. تلاش‌های بسیاری توسط محققین مختلف، در جهت توسعه رویکرد مدیریت یکپارچه *H. armigera* با استفاده از مقاومت گیاه میزبان صورت گرفته است (ناصری و همکاران، ۲۰۱۰؛ فتحی پور و ناصری، ۲۰۱۱) که از آن جمله می توان به تولید محصولات تراریخته‌ی Bt (شلتون و همکاران[1]، ۲۰۰۲)، کنترل بیولوژیک با استفاده از شکارگرها و پارازیتوئیدها (عبدی بستامی و همکاران، ۲۰۱۱)، ایجاد اختلال در جفت‌گیری با استفاده از فرومون‌های جنسی (ردی و مانجوناتا[2]، ۲۰۰۰)، استفاده از فرمولاسیون ویژه-ی تجاری باکتری Bt به عنوان آفت کش (لیاو و همکاران[3]، ۲۰۰۲)، کاربرد حشره‌کش‌های انتخابی (رفیعی دستجردی و همکاران، ۲۰۰۸) و مدیریت کشت محصول شامل اجرای تناوب صحیح، استفاده از گیاهان تله، تاریخ کاشت مناسب و سیستم‌های چند کشتی (جالو و همکاران[4]، ۲۰۰۴) اشاره کرد.

---

1 . Shelton *et al.*
2 . Reddy & Manjunatha
3 . Liao *et al.*
4 . Jallow *et al.*

۱-۴- شاخص های تغذیه‌ای

نوع و مقدار غذای خورده شده و تبدیل آن به زیست توده‌ی بدن، عامل مهم نشو و نما و باروری در حشرات می‌باشد (برائون و رائوبینهیمر [1]، ۲۰۰۳). با استفاده از شاخص‌های تغذیه‌ای یک حشره می‌توان میزان مقاومت میزبان‌های گیاهی را تعیین کرد (باربهر و کدی[2]، ۱۹۹۱). تفاوت در میزان ترکیبات شیمیایی در هیبریدهای مختلف گیاه میزبان (مارتین و پولین[3]، ۲۰۰۴) و توانایی حشره در هضم عناصر غذایی (سوگبسان و آگوومبا[4]، ۲۰۰۸) می‌تواند بر شاخص‌های تغذیه‌ای حشره که مهمترین آنها شاخص بازدهی تبدیل غذای خورده شده (ECI) و بازدهی تبدیل غذای هضم شده (ECD) می‌باشند، تأثیر بگذارند. این دو شاخص نشان می‌دهند که چه مقدار از غذای خورده شده و هضم شده در دستگاه گوارش حشره تبدیل به زیست توده بدن شده است.

تأثیر عوامل مرفوفیزیکی گیاهان مختلف روی میزان غذای خورده شده و کارایی تبدیل غذای خورده شده لاروهای *H. armigera* توسط آشفاق و همکاران[5] (۲۰۰۳) مطالعه شده است. سیمونز و همکاران (۲۰۰۴) و جینینگ و همکاران[6] (۲۰۰۴)، عامل مقاومت گوجه فرنگی به *H. armigera* را وجود مقادیر بالایی از سالیسیلیک اسید و تریکوم‌های غده‌ای در برگهای این گیاه بیان کردند. ناصری و همکاران (۲۰۱۰a)، با مطالعه‌ی شاخص‌های تغذیه‌ای *H. armigera* روی غلاف ارقام سویا نشان دادند که شاخص بازدهی تبدیل غذای خورده شده و بازدهی تبدیل غذای هضم شده مربوط به مجموع سنین لاروی دوم تا پنجم روی رقم M7 بیشترین (به ترتیب ۰/۵۲۴ و ۰/۸۲۰) و روی رقم Sahar کمترین (به ترتیب ۰/۲۷۹ و ۰/۳۵۳) مقدار را داشت. همچنین بررسی‌های سلیمان نژاد و همکاران (۲۰۱۰) روی بذر ارقام مختلف سویا در قالب رژیم غذایی مصنوعی نشان داد که شاخص بازدهی تبدیل غذای هضم شده لارو *H. armigera* روی رقم Sari بیشترین (۳۶/۴ درصد) و روی رقم Sahar کمترین (۱۴/۸ درصد) مقدار بود.

---

[1] . Browne & Raubenheimer
[2] . Barbehenn & and keddie
[3] . Martin & Pulin
[4] . Sogbesan & Ugwumba
[5] . Ashfaq *et al.*
[6] . Jinying *et al.*

ارقند و همکاران (۲۰۱۱) نیز با مطالعه‌ی شاخص‌های تغذیه‌ای *H. armigera* روی بذر پنج هیبرید ذرت (در قالب غذای مصنوعی) نتیجه گرفتند که بیشترین و کمترین مقدار ECI به ترتیب مربوط به ارقام SC260 و SC700، بیشترین و کمترین مقدار ECD به ترتیب مربوط به هیبریدهای SC704 و SC700 بودند. شاخص‌های تغذیه‌ای *H. armigera* روی ده رقم کلزا توسط چگینی و همکاران (۲۰۱۱) مورد مطالعه قرار گرفت. همتی و همکاران (۲۰۱۱) نیز با بررسی شاخص‌های تغذیه ای *H. armigera* روی میزبان های مختلف گیاهی (نخود، لوبیا چیتی، لوبیا چشم بلبلی، لوبیا سفید، لوبیا قرمز، سیب زمینی و گوجه فرنگی) نشان دادند که گوجه فرنگی رقم مشکین به عنوان نامناسب‌ترین میزبان برای *H. armigera* بود. باقری و همکاران (۲۰۱۳) با مطالعه‌ی شاخص‌های تغذیه‌ای *H. armigera* روی غذای مصنوعی تهیه شده از بذر پنج میزبان گیاهی (لوبیا چشم بلبلی، نخود، سویا، لوبیا سفید و ذرت) گزارش کردند که لاروهای *H. armigera* بیشترین و کمترین کارایی تغذیه‌ای را به ترتیب روی لوبیا چشم بلبلی و ذرت داشتند.

۱-۵- آنزیم های گوارشی

۱-۵-۱- آنزیم های گوارشی پروتئاز

پروتئازها سبب هیدرولیز کامل پروتئین‌ها به اسیدهای آمینه می‌شوند که بدین ترتیب اسیدهای آمینه و انرژی مورد نیاز را برای نشو و نما حشره تامین می‌کنند (تلنگ و همکاران[1]، ۲۰۰۵). پروتئازها شامل اندوپپتیدازها و اگزوپپتیدازها هستند. مطالعات انجام شده روی آنزیم‌های گوارشی پروتئاز در بالپولکداران نشان داده است که آنها عمدتا از نوع سرین پروتئازها هستند (پورسل و همکاران[2]، ۱۹۹۲). تریپسین‌ها و کیموتریپسین‌ها دو گروه مهم سرین پروتئازها می‌باشند که از دستگاه گوارش *H. armigera* جداسازی و شناسایی شده اند (جونستون و همکاران[3]، ۱۹۹۱). فعالیت پروتئولیتیک گوارشی

[1] . Telang *et al.*
[2] . Purcell *et al.*
[3] . Johnston *et al.*

لارو *H. armigera* روی میزبان‌های گیاهی مختلف و رژیم غذایی مصنوعی مطالعه شده است (جونستون و همکاران، ۱۹۹۳؛ بون و همکاران[۱]، ۱۹۹۷؛ پاتانکار و همکاران[۲]، ۲۰۰۱). تحقیقاتی نیز در زمینه بررسی ویژگی‌های پروتئازهای گوارشی *Spodoptera littoralis* (Boisdual) (لی و انستی[۳]، ۱۹۹۵)، *Heliothis virescens* (Fabricius) (جونستون و همکاران، ۱۹۹۵)، *Spodoptera exigua* (Hübner) (جونگسما و همکاران[۴]،۱۹۹۶) و بسیاری دیگر از آفات انجام شده است.

بر هم کنش پروتئازهای گوارشی *H. armigera* و مهارکننده‌های پروتئاز در گیاهان با هدف تعیین میزان مهار این آنزیم ها در *H. armigera* توسط محققین بسیاری مورد مطالعه قرار گرفته است (گیری و همکاران[۵]، ۱۹۹۸، ۲۰۰۳؛ هارسولکار و همکاران[۶]، ۱۹۹۹؛ پاتانکار و همکاران، ۲۰۰۱؛ چوگول و همکاران[۷]، ۲۰۰۵؛ دامل و همکاران[۸]، ۲۰۰۵؛ اسرینیواسان و همکاران[۹]، ۲۰۰۵؛ تامهان و همکاران[۱۰]، ۲۰۰۷). بررسی‌های اولیه روی پروتئازهای روده‌ی میانی *H. armigera* نشان دهنده‌ی وجود بیش از ۱۴ ایزوفرم پروتئاز با سطوح بیان متنوع می‌باشد (پاتانکار و همکاران، ۲۰۰۱). همچنین ویژگی ها و میزان فعالیت پروتئازهای روده‌ی میانی *H. armigera* و *S. exigua* توسط محمدی و همکاران (۲۰۱۰) بررسی شد. ناصری و همکاران (۲۰۱۰b)، فعالیت پروتئولیتک گوارشی *H. armigera* در واکنش به تغذیه از غلاف سیزده رقم سویا و غذای مصنوعی را بررسی کردند. فعالیت پروتئولیتیک گوارشی لاروهای *H. armigera* پرورش یافته روی میزبان‌های مختلف گیاهی توسط همتی و همکاران (۲۰۱۲) مورد مطالعه قرار گرفت. بسیاری از گیاهان با تولید مهار کننده‌های پروتئاز به تغذیه حشرات واکنش نشان می‌دهند (ریان، ۱۹۹۰). مهارکننده‌های پروتئیناز، یک نوع از پروتئین‌های دفاعی گیاهان در برابر گیاهخواران

---

[1] . Bown *et al.*
[2] . Patankar *et al.*
[3] . Lee and Anstee
[4] . Jongsma *et al.*
[5] . Giri *et al.*
[6] . Harsulkar *et al.*
[7] . Chougule *et al.*
[8] . Damle *et al.*
[9] . Srinivasan *et al.*
[10] . Tamhane *et al.*