بسم الله الرحمن الرحيم

بأسمه تعالی

دانشگاه زابل

مدیریت تحصیلات تکمیلی

صفحه الف

این پایان نامه با عنوان: «بررسی فعالیت پروتئین‌های بازدارنده آلفاآمیلاز استخراج شده از سه رقم گندم، در لوله گوارش سن گندم» قسمتی از برنامه آموزشی دوره کارشناسی ارشد رشته مهندسی کشاورزی گرایش حشره‌شناسی کشاورزی توسط دانشجو سمیه نوری تحت راهنمایی اساتید پایان نامه آقای دکتر عباس خانی و آقای دکتر مجید کزازی تهیه شده است. استفاده از مطالب آن به منظور اهداف آموزشی با ذکر مرجع و اطلاع کتبی به حوزه تحصیلات تکمیلی دانشگاه زابل مجاز می باشد.

امضا دانشجو

این پایان نامه ۶ واحد درسی شناخته می شود و در تاریخ ۱۳۹۱/۱۱/۷ توسط هیئت داوران بررسی و نمره ۱۹/۸ و درجه عالی به آن تعلق گرفت.

نام و نام خانوادگی	امضاء	تاریخ
۱- استاد راهنمای اول: دکتر عباس خانی		
۲- استاد راهنمای دوم: دکتر مجید کزازی		
۳- استاد مشاور اول: دکتر سید کاظم صباغ		
۴- استاد مشاور دوم: دکتر وحید حسینی نوه		
۵- استاد داور: دکتر احسان رخشانی		
۶- نماینده تحصیلات تکمیلی: دکتر سلطان رون		
۷- مدیر گروه: دکتر محمد سالاری		

مدیریت تحصیلات تکمیلی
دانشکده کشاورزی
گروه گیاهپزشکی

پایان‌نامه جهت اخذ درجه کارشناسی‌ارشد در رشته حشره‌شناسی کشاورزی

بررسی فعالیت پروتئین‌های بازدارنده آلفاآمیلاز استخراج شده از سه رقم گندم، در لوله گوارش سن گندم

استادان راهنما
دکتر عباس خانی
دکتر مجید کزازی

استادان مشاور
دکتر سید کاظم صباغ
دکتر وحید حسینی نوه

نگارش
سمیه نوری

بهمن ۸۸

با تمام اخلاص و احساسات خالصانه‌ام تقدیم می‌دارم به:

اولین و عزیزترین استادم، پدرم

و فرشته جاودان زندگیم، مادرم

که اشتیاق نگاهشان و تعالی روح بزرگ مهربانشان در سراسر زندگانیم، خاطرم را آرام و عزمم را طولانی کرد.

و

برادران عزیزم که پشتوانه صمیمی زندگی من، هستند.

و همه آنانکه دوستشان دارم.

سپاسگزاری

سپاس مخصوص اوست.

مخصوص همان یکتای بی‌همتا، او که یادش در تمام لحظات زندگیم پناه تمام بی‌پناهی‌هایم بود.

اکنون که زمان سپاسگزاری فراهم شده بر خود لازم می‌دانم که از همه عزیزانی که همراه و همگام لحظاتم بودند، نهایت تشکر را داشته باشم.

از اساتید راهنمای بزرگوارم جناب آقای دکتر عباس خانی و جناب آقای دکتر مجید کزازی که همواره همگام لحظاتم بودند سپاسگزارم، با امید به اینکه بتوانم علم و اخلاق این بزرگواران را در تمام مراحل زندگیم سرلوحه ی امورم قرار دهم.

از جناب آقای دکتر سید کاظم صباغ و جناب آقای دکتر وحید حسینی نوه به عنوان اساتید مشاورم که هیچ گاه الطاف خود را از من دریغ نفرمودند کمال تشکر را دارم.

از جناب آقای دکتر احسان رخشانی که زحمت داوری این پایان نامه را متقبل شدند بینهایت قدردانی می کنم و تشکر می کنم از همه دوستان و عزیزانی که وجودشان سرمایه امیدم بود.

خانم ها: احمدی، کلانتر، محبوبی، معلم زادگان، باقری، مهرآرا، سلیمانی

آقایان: مهاجری پاریزی، حیدری، تاج بخش، موسوی

و از همه همکلاسی ها و دوستان عزیزم سپاسگزارم.

سمیه نوری

بهمن ماه ۸۸

بررسی فعالیت پروتئین‌های بازدارنده آلفاآمیلاز استخراج شده از سه رقم گندم، در لوله گوارش سن گندم

چکیده

گندم یک محصول استراتژیک برای بسیاری از کشورها است و سن معمولی گندم نیز به عنوان مهم‌ترین آفت غلات بخصوص گندم و جو مطرح می‌باشد. آنزیم آلفاآمیلاز در موجودات زنده وظیفه هیدرولیز ترکیبات کربوهیدراتی از جمله نشاسته و گلیکوژن و سایر ترکیبات وابسته را به عهده دارد. پروتئین‌های گیاهی مهارکننده آلفاآمیلاز پتانسیل کاربرد بالایی در زمینه مهندسی ژنتیک و در مبحث مقاومت گیاهان در مقابل آفات دارا می‌باشد. در این تحقیق اثرات مهارکنندگی پروتئین‌های بازدارنده جدا شده از سه رقم گندم (رقم الوند از گندم معمولی) و (لاین‌های D_6 و D_{18} از گندم دوروم) بر آلفاآمیلاز گوارشی سن گندم مورد بررسی قرار گرفت. پروتئین‌های بازدارنده از دانه های گندم بوسیله ستون کروماتوگرافی تعویض یونی خالص‌سازی شدند. درصد مهارکنندگی و میزان فعالیت مهارکنندگی برای لاین‌های D_{18} ، D_6 و رقم الوند به ترتیب (٪ ۲۳/۳) ۰/۴۶ U/ml (٪ ۱۹/۱)، ۰/۳۸ U/ml (٪ ۱۹/۷)، ۰/۳۹ U/ml بدست آمد. آزمایشات الکتروفورزی (زیموگرام) پروتئین‌های بازدارنده خالص‌سازی شده نشان داد که، باندهای فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز در حضور پروتئین بازدارنده نسبت به شاهد (عدم حضور پروتئین بازدارنده) در لاین D_{18} نسبت به لاین D_6 و رقم الوند فعالیت کمتری دارد که موید فعالیت مهارکنندگی بالا در لاین D_{18} نسبت به لاین D_6 و رقم الوند می‌باشد.

واژگان کلیدی: دوروم، سن گندم، بازدارنده‌ی آلفاآمیلاز، خالص‌سازی

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل ۱- مقدمه ۱
فصل ۲- بررسی منابع ۶
۲-۱- گندم ۷
۲-۱-۱- اهمیت و معرفی گندم ۷
۲-۱-۲- تاریخچه گندم ۷
۲-۱-۳- مواد تشکیل دهنده دانه گندم ۸
۲-۱-۴- آفات مهم گندم ۸
۲-۲- جایگاه سن گندم در رده‌بندی حشرات ۹
۲-۳- پراکنش سن گندم در جهان و ایران ۹
۲-۴- شکل شناسی افراد بالغ سن گندم ۹
۲-۵- زیست شناسی سن معمولی گندم ۱۰
۲-۶- نحوه خسارت سن گندم ۱۰
۲-۷- روش‌های مبارزه با سن گندم ۱۲
۲-۸- سیستم گوارشی ۱۳
۲-۸-۱- هضم ۱۳
۲-۸-۲- جذب ۱۴
۲-۹- منابع غذایی ۱۵
۲-۱۰- کربوهیدرات ۱۶
۲-۱۱- آنزیم های گوارشی ۱۷
۲-۱۱-۱- نحوه عمل آنزیم ۱۷
۲-۱۱-۲- ترشح آنزیم‌های گوارشی در حشرات ۱۸
۲-۱۱-۳- طبقه‌بندی و نام‌گذاری آنزیم‌ها ۱۹
۲-۱۱-۳-۱-کربوهیدرازها ۱۹
۲-۱۱-۳-۲- استرازها ۱۹
۲-۱۱-۳-۳- پروتئازها ۲۰
۲-۱۲- هضم کربوهیدرات‌ها ۲۰
۲-۱۳- کربوهیدرازها ۲۰
۲-۱۳-۱- دزپلی‌مراز ۲۱
۲-۱۳-۲- گلیکوزیداز ۲۱
۲-۱۴- آلفا آمیلاز ۲۱
۲-۱۵- مهارکننده‌های آنزیمی ۲۳
۲-۱۶- مهارکننده‌های آنزیم آلفاآمیلاز ۲۵

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

۱-۱۷-۲- مکانیسم عمل مهارکننده‌های آلفاآمیلاز ۲۷
۱۸-۲- کاربردهای مهارکننده‌های آنزیمی ۲۸
۱۹-۲- گروه‌بندی مهارکننده‌های آلفاآمیلا ۳۰
۱-۱۹-۲- مهارکننده‌های Stereptomyces ۳۱
۲-۱۹-۲- knottins ۳۱
۳-۱۹-۲- γ-thionins ۳۲
۴-۱۹-۲- CM-Proteins ۳۲
۵-۱۹-۲- Kunitz- type ۳۳
۶ -۱۹-۲- Thaumatin - like ۳۴
۷-۱۹-۲- Lectin-like ۳۴
فصل ۳- مواد و روش‌ها ۳۸
۱-۳- مواد ۳۹
۲-۳- دستگاه‌ها ۴۱
۳-۳- جمع‌آوری سن گندم ۴۲
۴-۳- جداسازی اندام‌های گوارشی از بدن ۴۲
۱-۴-۳- جداسازی غددبزاقی ۴۲
۲-۴-۳- جداسازی معده ۴۳
۵-۳- همگن‌کردن نمونه‌ها ۴۴
۶-۳- سانتریفوژ کردن نمونه‌ها ۴۵
۷-۳- تهیه بافرها ۴۶
۱-۷-۳- بافر فسفات سدیم ۴۶
۲-۷-۳- بافر Tris-HCl ۴۶
۸-۳- تهیه محلول سوبسترا ۴۶
۱-۸-۳- تهیه سوبسترای نشاسته برای سنجش فعالیت آلفاآمیلاز ۴۶
۹-۳- تهیه معرف ۴۷
۱-۹-۳- معرف دی‌نیتروسالیسیلیک اسید ۴۷
۱۰-۳- تهیه نمونه‌های گندم ۴۸
۱۱-۳- استخراج اولیه پروتئین‌های بازدارنده از آرد گندم ۴۸
۱-۱۱-۳- آسیاب کردن دانه‌های گندم ۴۸
۲-۱۱-۳- تهیه مخلوط آرد و بافر ۴۸
۳-۱۱-۳- سانتریفوژ ۴۹
۴-۱۱-۳- حرارت دادن ۴۹
۵-۱۱-۳- رسوب با سولفات آمونیوم ۵۰
۶-۱۱-۳- تهیه سوسپانسون ۵۱

۳-۱۲- دیالیز ۵۱
۳-۱۳- لیوفلایز کردن نمونه‌ها ۵۲
۳-۱۴- کروماتوگرافی ژل فیلتراسیون ۵۳
۳-۱۴-۱- رزین Sephadex ۵۳
۳-۱۴-۲- آماده‌سازی ستون ژل فیلتراسیون ۵۴
۳-۱۴-۳- فرکشن‌گیری از ستون ژل فیلتراسیون ۵۵
۳-۱۵- بررسی اثر مهارکنندگی فرکشن‌های ژل فیلتراسیون روی فعالیت آلفاآمیلاز ۵۵
۳-۱۶- لیوفلایز فرکشن‌های فعال مرحله ژل فیلتراسیون ۵۷
۳-۱۷- کروماتوگرافی تعویض یونی ۵۷
۳-۱۷-۱- آماده‌سازی ستون کروماتوگرافی تعویض یونی ۵۸
۳-۱۷-۲- فرکشن‌گیری از ستون کروماتوگرافی تعویض یونی ۵۹
۳-۱۸- بررسی اثر مهارکنندگی فرکشن‌های کروماتوگرافی تعویض یونی روی فعالیت آلفاآمیلاز ۶۰
۳-۱۹- الکتروفورز ۶۱
۳-۱۹-۱- الکتروفورز غیر احیایی ۶۱
۳-۲۰- ترکیبات مورد نیاز برای زیموگرام ۶۲
۳-۲۰-۱- تهیه محلول اکریل آمید منومر ۶۲
۳-۲۰-۲- تهیه بافر الکترود ۶۲
۳-۲۰-۳- تهیه بافر متراکم کننده (Stacking buffer) ۶۲
۳-۲۰-۴-تهیه بافر جدا کننده (Resolving buffer) ۶۳
۳-۲۰-۵- تهیه بافر نمونه (Sample buffer) برای زیموگرام ۶۳
۳-۲۰-۶- پرسولفات آمونیوم ۱۰٪ ۶۳
۳-۲۰-۷- TEMED (N,N,N,N-Tetramethylethylenediamine) ۶۳
۳-۱۴-۳- زیموگرام ۶۵
۳-۲۱- تعیین مقدار پروتئین ۶۶
۳-۲۱-۱- روش استفاده از جذب امواج ماوراء بنفش با طول موج ۲۸۰ نانومتر ۶۶
۳-۲۲- تعیین منحنی استاندار مالتوز ۶۷
فصل ۴- نتایج و بحث ۶۸
۴-۱- تهیه منحنی استاندارد مالتوز ۶۹
۴-۲- تهیه منحنی استاندارد پروتئین بر اساس دانسیته نوری در طول موج ۲۸۰ نانومتر ۷۰
۴-۳- اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز سن گندم ۷۱
۴-۴- اثر مهارکننده‌های آلفاآمیلاز استخراج شده از گندم رقم الوند بر فعالیت آلفاآمیلاز معده سن گندم ۷۲
۴-۵- اثر مهارکننده‌های آلفاآمیلاز استخراج شده از گندم لاین D_6 بر فعالیت آلفاآمیلاز معده سن گندم ۷۴
۴-۶- اثر مهارکننده‌های آلفاآمیلاز استخراج شده از گندم لاین D_{18} بر فعالیت آلفاآمیلاز معده سن گندم ۷۶
۴-۷- ارتباط درصد مهارکنندگی مقادیر مختلف پروتئین مهارکننده در یک فراکشن از رقم الوند با بالاترین میزان مهارکنندگی ۷۸
۴-۸- ارتباط درصد مهارکنندگی مقادیر مختلف پروتئین مهارکننده در یک فراکشن از لاین D_6 بابالاترین میزان مهارکنندگی ۷۹

۴-۹- ارتباط درصد مهارکنندگی مقادیر مختلف پروتئین مهارکننده در یک فراکشن از لاین D_{18} با بالاترین میزان مهارکنندگی ۸۰
۴-۱۰- آزمایش Non-denaturing PAGE ۸۱
فصل ۵- بحث ۸۲
۵-۱- اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز سن گندم..... ۸۳
۵-۲- اثر مهارکننده‌های آلفاآمیلاز استخراج شده از ارقام و لاین‌های گندم بر فعالیت آلفاآمیلاز معده سن گندم ۸۳
۵-۳- ارتباط درصد مهارکنندگی مقادیر مختلف پروتئین مهارکننده در یک فراکشن با بالاترین میزان مهارکنندگی از رقم الوند و لاین‌های D_6و D_{18} ۸۶
۴-۱۰- آزمایش Non-denaturing PAGE ۸۱
منابع ۹۰

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۳. حشرات سن گندم در مجاورت خوشه کندم ۴۲
شکل ۲-۳. جمع آوری سن گندم از مناطق زمستان گذران ۴۲
شکل ۳-۳. جداسازی لوله گوارش سن گندم ۴۴
شکل ۴-۳. هموژنایز لوله گوارش سن گندم ۴۴
شکل ۵-۳. سانتریفوژ یخچالدار ۴۵
شکل ۶-۳. مراحل ساخت معرف دی نیترو سالیسیلیک اسید ۴۷
شکل ۷-۳. مایع رویی و رسوب زیرین حاصل از سانتریفوژ مخلوط آرد گندم و بافر NaCl 0/15 M ۴۸
شکل ۸-۳. لوله های فالکون محتوی عصاره های گندم در دستگاه سانتریفوژ ۴۹
شکل ۹-۳. بن ماری ۴۹
شکل ۱۰-۳. لوله های محتوی عصاره گندم در دمای $80^{\circ}C$ بن ماری ۴۹
شکل ۱۱-۳. رسوب با سولفات آمونیوم ۵۰
شکل ۱۲-۳. سوسپانسون آماده برای ورود به کیسه دیالیز ۵۱
شکل ۱۳-۳. فرآیند دیالیز ۵۲
شکل ۱۴-۳. دستگاه لیوفلایز ۵۲
شکل ۱۵-۳. دستگاه اسپکتروفتومتر ۵۶
شکل ۱۶-۳. فراکشن گیری از ستون تعویض یونی ۵۹
شکل ۱۷-۳. دستگاه الکتروفورز ۶۶
شکل ۱-۴. منحنی استاندارد مالتوز ۶۹
شکل ۲-۴. منحنی استاندارد جذب در ۲۸۰ نانومتر ۷۰
شکل ۳-۴. فعالیت مهارکنندگی و جذب نور توسط پروتئین در طول موج ۲۸۰نانومتر برای ۳۵ فراکشن الوند ۷۲
شکل ۴-۴. فعالیت مهارکنندگی و جذب نور توسط پروتئین در طول موج ۲۸۰نانومتر برای ۳۵ فراکشن از لاین D_6 ۷۴
شکل ۵-۴. فعالیت مهارکنندگی و جذب نور توسط پروتئین در طول موج ۲۸۰نانومتر برای ۳۵ فراکشن از لاین D_{18} ۷۶
شکل ۶-۴. درصد مهارکنندگی فراکشن ۲۵ از رقم الوند در ۴ حجم ۵، ۱۲، ۱۵و ۲۵ میکرولیتر ۷۸
شکل ۷-۴. درصد مهارکنندگی فراکشن۲۲ از لاین D_6 در ۴ حجم ۵، ۱۲، ۱۵و ۲۵ میکرولیتر ۷۹
شکل ۸-۴. درصد مهارکنندگی فراکشن۲۳ از لاین D_{18} در ۴ حجم ۵، ۱۲، ۱۵و ۲۵ میکرولیتر ۸۰
شکل ۹-۴. زیموگرام آنزیم با لاین D_{18} ۸۱
شکل ۱۰-۴. زیموگرام آنزیم با لاین D_6 ۸۱
شکل ۱۱-۴. زیموگرام آنزیم با رقم الوند ۸۱

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول ۱-۳. لیست مواد مورد استفاده در تحقیق ۳۹
جدول ۲-۳. لیست دستگاه‌های مورد استفاده در تحقیق ۴۱
جدول ۳-۳. اجزاء تشکیل دهنده ژل جداکننده ۷/۵٪ ۶۴
جدول ۴-۳. اجزا تشکیل دهنده ژل متراکم‌کننده ۳٪ ۶۴

فصل اول

مقدمه

مقدمه

گندم یک غله معتدله است که از آسیای غربی منشاء گرفته و به استثنای نواحی گرم و مرطوب در همه جا زراعت می‌شود. گندم یکی از مهم‌ترین محصولات کشاورزی کشور بوده که بیشترین میزان تولید (حدود ۱۱-۱۲ میلیون تن) و سطح زیر کشت (حدود ٦/٥ میلیون هکتار) را به خود اختصاص داده‌است. گندم شامل گندم نانوایی، گندم دوروم و خویشاوندان زراعی و وحشی هگزاپلوئید[1]، تتراپلوئید[2] و دیپلوئید[3] است (حبیبی، ۱۳۸۸; Majnonhoseini, 2004).

با توجه به روند افزایش جمعیت جهان که تا سال ۲۰۵۰ به ۹ میلیارد نفر خواهد رسید. بدیهی است که در آینده امنیت غذایی انسان‌ها مهم‌ترین چالش پیش روی دولت‌ها خواهد بود. بنابراین انجام تحقیقات در زمینه راهبردی افزایش تولید محصولات زراعی امری اجتناب ناپذیر است. با توجه به اهمیت استراتژیک گندم در بین محصولات کشاورزی و کاهش عملکرد این محصول در نتیجه حمله آفات و عوامل بیماریزا مطالعه در زمینه راههای کاهش خسارت ناشی از عوامل ذکر شده دارای اهمیت خاصی است (Pimentel, 2006).

در بین آفات گندم، بیشترین خسارت از طریق سن گندم وارد می‌شود. بیش از ۱۰ گونه سن زیان آور غلات در ایران جمع‌آوری و شناسایی شده‌اند. در بین آن‌ها سن معمولی گندم با نام علمی *Eurygaster integriceps* از اهمیت اقتصادی بیشتری برخوردار است. این گونه مهم‌ترین آفت کشاورزی کشور ما به حساب می‌آید. به جز مناطق خوزستان، سیستان و بلوچستان، اراضی ساحلی خلیج فارس،

1.Hexaploid
2.Tetraploid
3.Diploid

دریـای عمـان و دریـای خـزر و کویرهـای مرکـزی فـلات ایـران، در سـایر منـاطق کـشور وجـود دارد (رجبی، ۱۳۷۹). این آفت علاوه بر کاهش عملکرد از میزان کیفیت غذایی گندم از طریق تخریب پروتئین دانه نیز به طور قابل ملاحظه می‌کاهد، به طوری که تهیه نان از گندم‌هـای بـا بـیش از دو تـا سـه درصـد سن‌زدگی عملاً غیر ممکن است (محمدی خرم آبادی، ۱۳۷۹).

با وجود روش‌های کنترلی مختلف برای این آفت از جمله روش شیمیایی و زراعـی امـا تـاکنون کنترل موفقی برای آن حاصل نشده‌است. از آنجا که استفاده از سـموم شـیمیایی دارای پیامـدهای جبـران ناپذیری است، استفاده از ارقام مقاوم یکی از بهترین روش‌های کنترل سن گندم از نظر اقتصادی می‌باشد. این ارقام به طرق مختلف بر زندگی آفت و یا ارتبـاط متقابـل گیـاه و حـشره تـاثیر گذاشـته و از شـدت خسارت آن می‌کاهد.

با توجه به میزان نشاسته بالا در دانه‌های گندم و تغذیه سن از دانه‌های این محصول، آنـزیم‌هـای گوارشی کربوهیدراز از جمله آلفاآمیلاز در این حشره فعالیت زیادی از خود نشان می‌دهنـد و بـه عبـارت دیگر بقای این حشره بستگی به وجود و فعالیت این آنزیم جهت شکستن نـشاسته بـه واحـدهای قنـدی کوچک‌تر و در نهایت هضم غذای خورده شده دارد. کربوهیدرازها از جمله آلفاآمیلاز و گلوکوزیدازها از جمله مهم‌ترین آنزیم‌های گوارشی هستند که بـا هیـدرولیز نـشاسته و دی‌سـاکاریدها نقـش اصـلی را در گوارش حشرات ایفا می‌کنند (Nagaraju, 1995; Parry, 1996). این آنزیم‌ها بعنوان اهداف مناسبی بـرای حشره‌کش های زیستی دارای خاصیت مهارکنندگی آنزیمی هستند.

آلفاآمیلاز آنزیمی است که هیدرولیز نشاسته را به الیگوساکاریدهای کوتاه‌تر کاتالیز مـی‌کنـد ایـن پدیده یک مرحله مهم برای تغییـر شـکل نـشاسته بـه زیرواحـدهای مونـومر اسـت کـه بتواننـد در بـدن ارگانیسم‌ها جذب شوند (Terashima and Katoh, 1996).

امروزه موادی تحت عنوان مهارکننده‌های آنزیمی در پیکره گیاهان شناسایی شـده‌انـد کـه اغلـب پروتئینی هستند و از آن‌ها بعنوان عامل مقاومت گیاه به آفات یاد می‌شود. این ترکیبات جزء پروتئین‌هـای

ذخیره‌ای ساخته شده در گیاه هستند. مهارکننده‌های آنزیم‌های گوارشی در این میان از جایگاه ویژه‌ای برخوردار می‌باشند. اختلال در عمل کربوهیدرازها در حشرات بخصوص حشراتی که از دانه‌های غنی از نشاسته تغذیه می‌کنند هدف اصلی مهارکننده‌های آنزیم‌های کربوهیدراز است.

مهارکننده‌ها ترکیباتی هستند که در اتصال به جایگاه(سایت) فعال آنزیم، با سوبسترای آنزیم رقابت می‌کنند در نتیجه با اشغال این محل از تشکیل پیوند سوبسترا-آنزیم جلوگیری کرده و مانع فعالیت آنزیم بر روی سوبسترا می‌گردند.

تاکنون مطالعات زیادی روی بازدارنده‌های آلفاآمیلاز در غلات و حبوبات در سطح جهان انجام شده‌است. در مدیریت انبوهی آفات از دیرباز امید زیادی به ایجاد مقاومت در گیاهان نسبت به آفات وجود داشته است. هرچند ایجاد مقاومت در گیاه امری مشکل و تدریجی است اما با پیدایش تکنیک انتقال ژن این امر تا حدی تسهیل شده است. چنانچه امروزه کاربرد گیاهان تراریخت مقاوم به آفات از طریق انتقال ژن بیان کننده پروتئین‌های مهارکننده از گیاهان مقاوم به گیاهان حساس امری اجتناب‌ناپذیر است (کزازی، ۱۳۸۵).

با توجه به اهمیت سن گندم تاکنون در ایران مطالعاتی روی میزان حساسیت و یا مقاومت برخی ارقام در برابر سن گندم انجام شده‌است (رضابیگی، ۱۳۷۳). کزازی(۱۳۸۵) به مطالعه ویژگی‌های بیوشیمیایی برخی آنزیم‌های کربوهیدراز (آلفاآمیلاز و گلوکوزیدازهای) این حشره پرداخت و همچنین دو رقم گندم مهدوی و فلات را از نظر وضعیت پروتیئن‌های مهارکننده آلفاآمیلاز در مقابل آلفاآمیلاز این حشره مورد بررسی قرار داد.

هدف از انجام این تحقیق، بررسی وضعیت دو لاین مختلف گندم دوروم در مقایسه با رقم الوند از گندم نان از نظر وجود و یا عدم وجود پروتیئن‌های بازدارنده آلفاآمیلاز در برابر آلفاآمیلاز سن گندم می‌باشد.

در این بررسی لاین‌های D_6 وD_{18} از گندم دوروم و رقم الوند از گندم نان مورد مطالعه قرار گرفت. گندم دوروم از مهم‌ترین غلات دانه ریز می‌باشد که به طور عمده مصرف انسانی دارد (صنایع ماکارونی و بیسکویت سازی) (رشیدی منفرد و همکاران، ۱۳۸۷; سعیدی و اسماعیل زاده، ۱۳۷٦).

گندم الوند از دورگ‌گیری یک گندم بومی منطقه اردبیل با یک گندم خارجی در ایران بدست آمده است. این رقم با توجه به پتانسیل عملکرد بالا، خصوصیات مطلوب زراعی، تاحدی مقاومت به آفات و بیماری‌ها و تحمل نسبی در برابر شوری و خشکی در سال ۱۳۷۲ نام‌گذاری و برای کشت در مناطق سردسیر کشور معرفی شده است (نوابی و همکاران، ۱۳۷٤).

فصل دوم

مروری بر تحقیقات انجام شده

مروری بر تحقیقات انجام شده

۱-۲- گندم

۱-۱-۲- اهمیت و معرفی گندم

گیاهان زراعی که در نقاط مختلف دنیا و در شرایط مختلف آب و هوایی کشت می‌گردند و محصول آن‌ها به مصرف تامین غذای ضروری و اولیه انسان می‌رسد، هر یک به نوبه خود قرن‌ها پیش از نباتات وحشی هم‌تیره‌شان حاصل شده‌اند. گندم احتمالا یکی از اولین گیاهانی است که به وسیله انسان زراعت شده و به همین دلیل مهم‌ترین گیاه زراعی به شمار می‌آید. در حال حاضر غلات ۷۰ درصد سطح زیر کشت گیاهان زراعی جهان را تشکیل داده و ۵۰ درصد پروتئین مورد نیاز انسان را تأمین می‌کنند.

گندم با نام علمی*Triticum aestivum* گیاهی است متعلق به خانواده غلات، که در سطح وسیعی از زمین‌های کشاورزی دنیا کشت و تولید می‌شود. منشاء و منطقه پیدایش آن از علف‌های وحشی نواحی شرق مدیترانه، خاور نزدیک و خاورمیانه گزارش شده است. از نظر ارزش غذایی نقش عمده‌ای در تغذیه انسان دارد و به دلیل سهم آن در الگوی غذایی حدود ۵ درصد جمعیت جهان، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

۲-۱-۲- تاریخچه گندم

این گیاه حدود ۱۲ تا ۱۷ هزار سال قبل از میلاد در خاورمیانه کشت می‌گردید و حدود ۱۰ تا ۱۵ هزار سال قبل از میلاد نیز در آسیا وجود داشته است. به طور دقیق مرکز اصلی گندم‌های اولیه که شامل