نامه‌ی انجمن حشره‌شناسی ایران
۱۳۹۱ - ۳۲(۲): ۹۱-۱۰۴

مقایسه‌ی شاخص‌های تغذیه‌ای و آنزیم‌های گوارشی کرم گلوگاه انار، *Ectomyelois ceratoniae* (Lep.: Pyralidae)، روی میوه‌ی سه رقم انار

داود زارع[۱]، جلال جلالی سندی[۱و*]، آرش زیبایی[۱] و علی جعفری ندوشن[۲]

۱- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ۲- مرکز تحقیقات کشاورزی استان یزد، یزد.

*مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: jjalali@guilan.ac.ir

Comparison of feeding indices and digestive enzymes of pomegranate neckworm, *Ectomyelois ceratoniae* (Lep.: Pyralidae) on three pomegranate cultivars

D. Zare[1], J. Jalali Sendi[1&*], A. Zibaee[1] and A. Jafary Nodoushan[2]

1. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Guilan, Rasht, Iran, 2. Agricultural Research Centre of Yazd, Yazd. Iran.

*Corresponding author, E-mail: jjalali@guilan.ac.ir

چکیده

در این پژوهش شاخص‌های تغذیه‌ای کرم گلوگاه انار روی سه رقم انار شامل ملس دانه سیاه، گبری و شهوار در شرایط کنترل‌شده (دمای ۱ ± ۳۰ درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی ۵ ± ۷۰ درصد و دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) مطالعه شد. فعالیت آنزیم‌های لوله‌ی گوارش میانی در لاروهای پرورش‌یافته روی سه رقم انار نیز مقایسه شد. نتایج نشان داد که نرخ مصرف نسبی (RCR) به‌طور معنی‌داری در بین ارقام متفاوت بود. بالاترین میزان نرخ رشد نسبی (RGR)، کارایی تبدیل غذای خورده‌شده (ECI) و کارایی تبدیل غذای هضم‌شده (ECD) روی رقم شهوار مشاهده شد. شاخص تقریبی هضم‌شوندگی (AD) در رقم ملس دانه سیاه بیش‌ترین میزان را داشت. بیش‌ترین فعالیت آنزیم‌های آلفاآمیلاز و لیپاز در لوله‌ی گوارش لاروهای پرورش‌یافته روی رقم شهوار مشاهده شد. درحالی‌که پروتئازها کم‌ترین فعالیت را در این لاروها نشان دادند. نتایج حاضر نشان داد که رقم شهوار در بین ارقام مورد مطالعه از کیفیت غذایی بالاتری برای کرم گلوگاه انار برخوردار است.

واژگان کلیدی: کرم گلوگاه انار، شاخص‌های تغذیه، آلفاآمیلاز، لیپاز، پروتئاز

Abstract

In this research nutritional indices of pomegranate neckworm on the three cultivars of pomegranate including Malas-Daneh-Sia, Gabri and Shahvar were studied under controlled conditions (30 ± 1ºC, 70 ± 5% RH and 16L: 8D). Enzymatic activity in the midgut of larvae reared on these cultivars was also compared. Results indicated that the relative consumption rate (RCR) was significantly different among three cultivars. The highest amounts of the relative growth rate (RGR), efficiency of conversion of ingested food (ECI) and efficiency of conversion of digested food (ECD) were observed on Shahvar cultivar. The approximate digestibility (AD) on Malas-Daneh-Sia was the highest. The highest enzymatic activities of α-amylases and lipases were observed in the midgut of larvae reared on Shahvar cultivar. In contrast, proteases demonstrated the lowest activity in these larvae. The present findings showed that the shahvar cultivar has a higher feeding quality for pomegranate neckworm.

Key words: pomegranate neckworm, nutritional indices, α-amylase, lipase, protease

دریافت: ۱۳۹۰/۱۰/۶، پذیرش: ۱۳۹۱/۴/۱۱.

مقدمه

ایران با ۷۰۰ هزار تن تولید در سال، نخستین تولیدکننده‌ی انار دنیا می‌باشد (Sheikhali *et al*., 2009). مهم‌ترین عامل کاهش کمی و کیفی محصول انار، کرم گلوگاه انار، *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller)، است که میزان خسارت این آفت در باغ‌های انار تابعی از رقم و شرایط به‌زراعی می‌باشد (Shakeri, 2003). کرم گلوگاه انار حشره‌ای چندین‌خوار و در مناطق مختلف جهان آفت مهم انار، پسته، خرما و بادام می‌باشد (Dhouibi, 1982; Echlin, 1982; Shakeri, 2003; Norouzi *et al*., 2008). میزان خسارت این آفت در ارقام مختلف انار متفاوت برآورد شده است (Shakeri, 2003). کرم گلوگاه در ایران با جمع‌آوری انارهای آلوده‌ی باقی‌مانده که مکان زمستان‌گذرانی آفت می‌باشند، کنترل می‌شود. استفاده از ارقام مقاوم و یا استفاده از ارقام با حساسیت کم‌تر مهم‌ترین و مؤثرترین روش کنترل کرم گلوگاه به‌شمار می‌آید (Shakeri, 2003). عوامل مؤثر روی رشد و نمو آفت، کیفیت تغذیه‌ای گیاه میزبان (Navarro *et al*., 1986; Al-Izzi *et al*., 1987; Al-Rubeai, 1987; Al-Izzi *et al*., 1988) اسیدهای آمینه‌ی خاص (Al-Izzi & Al-Maliky, 1996)، رطوبت نسبی (Cox, 1976; Moawad, 1979) و میزان رطوبت میزبان ذکر شده است.

با استفاده از شاخص‌های فیزیولوژیکی از قبیل شاخص‌های تغذیه‌ای می‌توان حساسیت ارقام مختلف یک گیاه را نسبت به آفتی خاص مشخص کرد. به‌عنوان مثال، در تحقیقی با استفاده از شاخص‌های تغذیه‌ای *Spodoptera frugiperda* Smith روی نه رقم چمن آفریقایی، *Cynodon dactylon* (L.) Pres.، رقم‌های مقاوم و حساس از هم تفکیک شدند (Jamjanyn & Quisenberry, 1988). شاخص‌های تغذیه در تعیین اثر مقاومت گیاه روی سوخت‌وساز و رفتار حشره مهم می‌باشند (Kogan, 1973).

میزان آنزیم‌های گوارشی و فعالیت آن‌ها به منبع غذایی حشره بستگی دارد (Slansky, 1982; Dow, 1986). از مهم‌ترین آنزیم‌های لوله‌ی گوارش میانی حشرات، آمیلازها، لیپازها و پروتئازها می‌باشند. با مشخص شدن میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی می‌توان با استفاده از بازدارنده‌های آنزیمی و گیاهان تراریخته‌ی دارای این مواد بازدارنده روش‌های کنترل آفات را گسترش داد (Zibaee *et al*., 2008).

هدف از این تحقیق تعیین شاخص‌های تغذیه‌ای و همچنین میزان فعالیت برخی آنزیم‌های گوارشی کرم گلوگاه روی سه رقم تجاری انار شامل ملس دانه سیاه، گبری و شهوار برای ارزیابی میزان حساسیت این ارقام به این آفت می‌باشد. این اطلاعات در انتخاب رقم برای احداث باغ انار و همچنین برنامه‌های مدیریت آفت به‌کار می‌آید.

مواد و روش‌ها

پرورش کرم گلوگاه انار

انارهای آلوده‌ی سه رقم شامل ملس دانه سیاه، گبری و شهوار از انارستان بزرگ مهریز واقع در استان یزد در شهریور ۱۳۸۹ جمع‌آوری و لاروها جداسازی شدند. لاروهای مربوط به هر رقم به مدت ۳ نسل در شرایط آزمایشگاهی (اتاقک رشد با دمای ۱ ± ۳۰ سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۷۰ درصد و دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی)، به‌طور جداگانه روی دانه‌های ارقام مورد نظر انار پرورش یافتند و پس از سپری شدن نسل سوم، لاروهای نسل چهارم در آزمایش‌ها به‌کار گرفته شدند.

خشک‌کردن نمونه‌ها

محاسبه‌ی وزن خشک انارهای مورد تغذیه‌ی لاروها، فضولات و لاروهای مشابه لاروهای به‌کار رفته در آزمایش با قراردادن آن‌ها در دمای ۶۰ درجه‌ی سلسیوس برای مدت ۴۸ ساعت انجام شد که برای پرهیز از اشتباه پس از طی این مدت و توزین مواد خشک، دو ساعت بعد این توزین دوباره تکرار شد (Lazarevic & Peric-Mataruga, 2003).

تعیین شاخص‌های تغذیه‌ای

لاروهای سن پنجم که کم‌تر از ۲۴ ساعت از ظهورشان گذشته بود، به‌مدت ٤ ساعت پیش از شروع آزمایش گرسنه نگه داشته شدند تا محتویات معده‌ی آن‌ها خالی شود. آزمایش با سه تیمار شامل سه رقم، پنج تکرار و در هر تکرار شش عدد لارو سن پنجم انجام شد. هر لارو در ظرفی پلاستیکی به ابعاد٤ × ٦ × ٨ سانتی‌متر قرار داده شد. هر ظرف حاوی یک گرم

دانه‌ی انار از ارقام مورد مطالعه بود. قبل از شروع آزمایش، دانه‌های انار ابتدا خشک و سپس توسط آسیاب به‌صورت پودر درآمد و در آزمایش‌ها مورد استفاده قرار گرفت. لاروها پس از اندازه‌گیری و یادداشت وزن اولیه (ترازوی با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم) در ظرف‌ها قرار داده شدند. مدت آزمایش چهار روز در نظر گرفته شد. آزمایش در شرایط کنترل شده‌ی آزمایشگاهی (دمای ۱ ± ۳۰ درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی ۵ ± ۷۰ درصد و دوره‌ی نوری ۱٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی)، انجام گرفت. بعد از پایان چهارمین روز، لاروها به مدت ٤٨ ساعت در دمای ٦۰ درجه‌ی سلسیوس آون قرار داده و سپس توزین شدند. فضولات تولید شده در انتهای هر روز، جمع‌آوری و پس از خشک کردن در آون، وزن شدند. غذای لاروها نیز هر روز تعویض و بعد از خشک کردن توزین شدند.

برای تعیین شاخص‌های تغذیه‌ای لاروهای شب‌پره‌ی کرم گلوگاه انار در مورد نرخ رشد نسبی، از رابطه‌ی ارایه شده توسط Huang & Ho (1998) و درمورد سایر شاخص‌ها از روابط ارایه شده توسط Scriber & Slansky (1981) به‌شرح زیر استفاده شد:

- $RCR = I / B \times T$
- $RGR = (Fw - Iw) / (Iw \times T)$
- $ECI (\%) = (B / I) \times 100$
- $ECD (\%) = (B / (I - F)) \times 100$
- $AD (\%) = ((I - F) / I) \times 100$

در این فرمول‌ها، RCR نرخ مصرف نسبی؛ I وزن خشک کل غذای خورده‌شده به‌ازای هر لارو (گرم)؛ B بیوماس لارو یا تفاوت وزن لارو در ابتدا و انتهای آزمایش (گرم)؛ T مدت زمان آزمایش (٤ روز)؛ RGR نرخ رشد نسبی؛ Fw وزن خشک لارو در انتهای آزمایش (گرم)؛ Iw وزن خشک لارو در ابتدای آزمایش (گرم)؛ ECI کارایی تبدیل غذای خورده‌شده؛ ECD کارایی تبدیل غذای هضم‌شده؛ F وزن خشک کل فضولات تولیدشده توسط هر لارو در هر تکرار (گرم) و AD شاخص تقریبی هضم‌شوندگی است.

تهیه‌ی نمونه برای بررسی فعالیت آنزیم‌های گوارشی

سی عدد لارو از لاروهای روز سوم سن چهارم پرورش‌یافته روی هر رقم به‌طور تصادفی انتخاب شدند. این لاروها در آب مقطر سرد تشریح و لوله‌ی گوارش آن‌ها با پنس خارج شد.

لوله‌ی گوارش میانی جدا و در آب مقطر سرد شسته شد. برای استخراج آنزیم‌های گوارشی از محتویات لوله‌ی گوارش میانی، نمونه‌ها با استفاده از هموژنایزر دستی همگن شدند. در این مرحله نمونه‌ها در مقدار معینی آب مقطر قرار داده شدند و سپس نمونه‌ها در ظرف محتوی یخ همگن شدند. در مرحله‌ی بعد نمونه‌ها به‌مدت ۲۰ دقیقه در g ۱۳۰۰۰ در دمای ٤ درجه‌ی سلسیوس، سانتریفیوژ شدند. از رونشین، در مراحل بعدی استفاده شد.

اندازه‌گیری فعالیت آلفاآمیلاز

برای اندازه‌گیری فعالیت آلفاآمیلاز (EC 3.2.1.1) بر حسب میکرومول/ دقیقه/ میلی‌گرم پروتئین، از روش دی‌نیتروسالیسیلیک‌اسید (DNS) (Bernfeld, 1955) استفاده شد. واکنش در محیط بافری فسفات (pH = ۷/۱ و ۰/۰۲ M) در دمای ۳۵ درجه‌ی سلسیوس با مقدار ۲۰ میکرولیتر محلول همگن‌شده، ٤۰ میکرولیتر محلول نشاسته‌ی یک درصد به‌عنوان سوبسترا و ۱۰۰ میکرولیتر بافر فسفات برای مدت ۳۰ دقیقه انجام شد. سپس واکنش با اضافه‌کردن ۱۰۰ میکرولیتر معرف DNS متوقف شد و به‌مدت ۱۰ دقیقه در آب جوش قرار گرفت. بعد از سرد شدن نمونه‌ها در دمای اتاق، ۱۰۰۰ میکرولیتر آب مقطر به آن‌ها اضافه و ۲۵۰ میکرولیتر از محلول حاصل داخل میکروپلیت قرار داده شد (Stat Fax 3200, Awareness Technology, USA). جذب نوری در طول موج ٥٤۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم لیپاز

میزان فعالیت لیپاز برحسب میلی‌مول/ دقیقه/ میلی‌گرم پروتئین مطابق روش Tsujita *et al.* (1989) اندازه‌گیری شد. هر ۲۰ میکرولیتر از نمونه‌ها و ٤۰ میکرولیتر *p*- نیتروفنیل‌بوتیرات به‌عنوان سوبسترا با ۱۰۰ میکرولیتر فسفات به‌عنوان بافر مخلوط شدند. مخلوط حاصل در دمای ۳۷ درجه‌ی سلسیوس قرار گرفت تا فعالیت آنزیم متوقف شود. سپس نمونه‌ها سرد شدند و مقدار جذب در طول موج ٤٥۰ نانومتر قرائت شد. یک واحد از آنزیم، یک نانومول *p*- نیتروفنول را در یک دقیقه در pH = ۷، در دمای ۳۷ درجه‌ی سلسیوس با استفاده از سوبسترای *p*- نیتروفنول‌بوتیرات رهاسازی می‌کند.

اندازه‌گیری فعالیت پروتئازها

میزان فعالیت آنزیم پروتئاز برحسب OD/ دقیقه/ میلی‌گرم پروتئین با روش Cohen (1993) با کمی تغییرات اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری فعالیت پروتئاز از سوبسترای آزوکازئین ۱٪ استفاده شد. ۱۰۰ میکرولیتر بافر فسفات، ٤۰ میکرولیتر آزوکازئین و ۲۰ میکرولیتر نمونه باهم مخلوط شدند. مخلوط حاصل به‌مدت ٦۰ دقیقه در دمای ۳۰ درجه‌ی سلسیوس آون نگه‌داری شد (Ranjbar *et al*., 2011). سپس به نمونه‌ها ۱۵۰ میکرولیتر تری‌کلرواستیک‌اسید (TCA) ۳۰٪ اضافه شد تا واکنش متوقف شود. نمونه‌ها پس از قرار گرفتن به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ٤ درجه‌ی سلسیوس در یخچال در g ۱۰۰۰۰ به‌مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. ۱۰۰ میکرولیتر از مخلوط حاصل با ۱۰۰ میکرولیتر NaOH ۱ مولار مخلوط و در چاهک‌های میکروپلیت ریخته شد و در نهایت میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ٤۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری میزان پروتئین کل

برای اندازه‌گیری پروتئین کل، روش Bradford (1976) مورد استفاده قرارگرفت. از آلبومین سرم گاوی به‌عنوان پروتئین استاندارد استفاده شد. نمونه‌های هموژنایزشده به‌مدت ۵ دقیقه در g ۱۰۰۰۰ در دمای ٤ درجه‌ی سلسیوس سانتریفیوژ شدند. سپس ۱۰ میکرولیتر از رونشین با ۹۰ میکرولیتر آب مقطر و ۲/۵ میلی‌لیتر ترکیب رنگی کوماسی‌بلو (۱۰ میلی‌گرم پودر کوماسی برلیانت‌بلو (G250) در ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹٦٪ حل و مقدار ۱۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۸۵٪ به آن اضافه شد و حجم محلول حاصل با آب مقطر به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد) مخلوط شد. جذب در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری

جهت مقایسه‌ی پارامترها از تجزیه‌ی واریانس یک‌طرفه (one-way ANOVA) و در صورت وجود تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها از آزمون چنددامنه‌ی دانکن در سطح ۵ درصد استفاده شد. کلیه‌ی تجزیه‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS 18 (SPSS, 2004) انجام گرفت.

نتایج

تأثیر سه رقم انار بر شاخص‌های تغذیه‌ی کرم گلوگاه انار

شاخص‌های تغذیه‌ای کرم گلوگاه انار شامل نرخ مصرف نسبی، نرخ رشد نسبی، کارایی تبدیل غذای خورده‌شده، کارایی تبدیل غذای هضم‌شده و شاخص تقریبی هضم‌شوندگی روی سه رقم انار محاسبه شدند (جدول ۱). نتایج نشان داد که نرخ مصرف نسبی در سه رقم ملس دانه سیاه، گبری و شهوار دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد بود. این مقدار در رقم ملس دانه سیاه بیش‌تر از دو رقم دیگر و برابر با ۰/۷٦ ± ۱۰/۹۸ گرم/گرم/روز بود. کم‌ترین مقدار هم در رقم شهوار به‌دست آمد (۰/۲۲ ± ٤/٦ گرم/گرم/روز). نتایج نشان داد که نوع رقم میزبان تأثیر معنی‌داری روی نرخ رشد نسبی لارو آفت داشت. بیش‌ترین مقدار مربوط به رقم شهوار و کم‌ترین مقدار مربوط به رقم ملس دانه سیاه بود. بین مقادیر مربوط به کارایی تبدیل غذای خورده‌شده و کارایی تبدیل غذای هضم‌شده در سه رقم مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری وجود داشت. کارایی تبدیل غذای خورده‌شده از ۰/۱۰ ± ۲/٤۷ درصد در رقم ملس دانه سیاه تا ۰/۲۵ ± ۵/۷۵ درصد در رقم شهوار متغیر بود. کارایی تبدیل غذای هضم‌شده در ارقام ملس دانه سیاه، گبری و شهوار به‌ترتیب ۰/۱٤ ± ۳/۵۲، ۰/۲۵ ± ٦/۰۲ و ۰/۵۳ ± ۱۱/۲٦ درصد برآورد شد که بین این مقادیر تفاوت معنی‌دار بود. شاخص تقریبی هضم‌شوندگی به‌طور معنی‌داری در رقم ملس دانه سیاه بیش‌تر از دو رقم دیگر به‌دست آمد و مقدار مربوط به رقم شهوار به‌طور معنی‌داری کم‌تر از دو رقم دیگر بود. هم‌چنین نتایج نشان داد که بیش‌ترین میزان غذای خورده‌شده مربوط به رقم گبری و کم‌ترین میزان غذای خورده‌شده مربوط به رقم ملس دانه سیاه بود. لاروهای تغذیه‌کننده از رقم شهوار بیش‌ترین افزایش وزن را نشان دادند و بیش‌ترین فضولات لارو هنگام تغذیه از این رقم به‌دست آمد که با رقم گبری از نظر آماری اختلاف معنی‌داری نشان نداد (جدول ۲).

تأثیر سه رقم انار بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی و مقدار پروتئین کل

فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز در لاروهای پرورش‌یافته روی سه رقم ملس دانه سیاه، گبری و شهوار به‌طور معنی‌داری متفاوت بود. بیش‌ترین فعالیت آنزیم در لاروهای پرورش‌یافته روی

رقم شهوار مشاهده شد (جدول۳). فعالیت آنزیم لیپاز در رقم شهوار بیش‌ترین میزان را داشت و به‌طور معنی‌داری از فعالیت این آنزیم در رقم ملس دانه سیاه بیش‌تر بود ولی میزان فعالیت این آنزیم در رقم گبری با دو رقم دیگر تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول۳).

جدول ۱- شاخص‌های تغذیه‌ی (میانگین ± خطای استاندارد) *E. ceratoniae* روی سه رقم انار در شرایط آزمایشگاهی.

Table 1. Nutritional indices (Mean ± SE) of *E. ceratoniae* on three pomegranate cultivars at laboratory conditions.

Nutritional indices	Malas-Daneh-Sia	Gabri	Shahvar
RCR (g / g / day)	10.98 ± 0.76 a	7.25 ± 0.23 b	4.60 ± 0.22 c
RGR (g / g / day)	0.194 ± 0.013 c	0.382 ± 0.018 b	0.469 ± 0.018 a
ECI (%)	2.47 ± 0.10 c	3.55 ± 0.11 b	5.75 ± 0.25 a
ECD (%)	3.52 ± 0.14 c	6.02 ± 0.25 b	11.26 ± 0.53 a
AD (%)	70.15 ± 0.62 a	59.79 ± 0.96 b	51.58 ± 0.91 c

Different letters in the rows indicate significant differences within various cultivars (DMRT, $P < 0.05$).
RCR = Relative consumption rate; RGR = Relative growth rate; ECI = Efficiency of conversion of ingested food; ECD = Efficiency of conversion of digested food; AD = Approximate digestibility.

جدول ۲- میانگین (± خطای استاندارد) میزان غذای خورده‌شده (I)، تفاوت وزن (B) و میزان فضولات تولیدشده (F) توسط لاروهای *E. ceratoniae* روی سه رقم انار در شرایط آزمایشگاهی.

Table 2. Mean (± SE) of ingested food (I), weight gain (B) and frass (F) of *E. ceratoniae* larvae on three pomegranate cultivars at laboratory conditions.

Cultivar	Ingested food (g/larvae)	Weight gain (g/larvae)	Frass (g/larvae)
Malas-Daneh-Sia	0.0262 ± 0.0010 c	0.000667 ± 0.00004 c	0.0079 ± 0.0004 b
Gabri	0.0407 ± 0.0015 a	0.00146 ± 0.00007 b	0.0166 ± 0.0008 a
Shahvar	0.0358 ± 0.0022 b	0.00195 ± 0.00008 a	0.0175 ± 0.0013 a

Different letters in the columns indicate significant differences within various cultivars (DMRT, $P < 0.05$).

مقایسه‌ی فعالیت آنزیم پروتئاز در سه رقم ملس دانه سیاه، گبری و شهوار به‌صورت نسبی انجام گرفت. فعالیت آنزیم پروتئاز در لاروهای پرورش‌یافته روی رقم ملس دانه سیاه بیش‌ترین میزان را داشت و کم‌ترین میزان فعالیت مربوط به رقم شهوار بود. مقدار پروتئین کل در لاروهای پرورش‌یافته روی ملس دانه سیاه کم‌ترین و در شهوار بیش‌ترین بود (جدول۳).

جدول ۳- فعالیت آنزیم‌های گوارشی و پروتئین کل (میانگین ± خطای استاندارد) در *E. ceratoniae* روی سه رقم انار.

Table 3. Activity of digestive enzymes and total protein (Mean ± SE) in *E. ceratoniae* on three pomegranate cultivars.

Cultivar	α-amylase activity (μ mol/min/mg protein)	Lipase activity (m mol/min/mg protein)	Protease activity (OD/min/mg protein)	Total protein (mg/dl)
Malas-Daneh-Sia	18.65 ± 0.93 c	0.975 ± 0.073 b	46.71 ± 6.9 a	0.1 ± 0.002 c
Gabri	21.47 ± 0.36 b	2.035 ± 0.50 ab	35.73 ± 3.72 ab	0.2 ± 0.003 b
Shahvar	34.24 ± 0.75 a	2.735 ± 0.192 a	24.39 ± 4.25 b	0.30 ± 0.001 a

Different letters in the columns indicate significant differences within various cultivars (DMRT $P < 0.05$).

بحث

اندازه‌گیری میزان غذای خورده‌شده، هضم‌شده و استفاده از آن می‌تواند مشخص‌کننده‌ی کیفیت غذا باشد که توسط شاخص‌های تغذیه تعیین می‌شوند (Rezaei *et al*., 2006). شاخص‌های تغذیه‌ای در تعیین اثر مقاومت گیاه روی متابولیسم و رفتار حشره اهمیت دارند (Kogan, 1973). کیفیت غذا روی میزان تغذیه‌ی آفت مؤثر است (Chih *et al*., 2003) و با استفاده از شاخص‌های تغذیه‌ای می‌توان بازده متابولیکی حشرات تغذیه کننده روی ارقام گیاهی را نشان داد (Bhat & Bhattacharya, 1978).

نرخ مصرف نسبی، سرعت بهره‌برداری حشره از غذا را نشان می‌دهد و ویژگی‌های کیفی میزبان روی آن تأثیر مستقیم دارد (Rezaei *et al*., 2006). در مطالعه‌ی حاضر نرخ مصرف نسبی در رقم ملس دانه سیاه بیش‌ترین میزان را داشت. ازآنجاکه لاروهای تغذیه کننده روی این رقم کم‌ترین افزایش وزن را داشتند می‌توان چنین استنباط کرد که مواد غذایی مطلوب در این رقم کم‌تر از دو رقم دیگر می‌باشد و لاروها برای تأمین نیازهای بدن خود مجبورند نرخ مصرف نسبی خود را روی این رقم بالا ببرند. نرخ رشد نسبی اغلب به‌عنوان شاخصی برای ترجیح می‌باشد (Rezaei *et al*., 2006). کاهش نرخ رشد در رقم ملس دانه سیاه می‌تواند به‌دلیل افزایش دوره‌ی لاروی (داده‌های منتشرنشده) به‌خاطر افزایش میزان غذای خورده‌شده باشد که باید سوخت‌وساز شود. بالا بودن این شاخص روی رقم شهوار به‌دلیل مطلوبیت این رقم برای کرم گلوگاه می‌باشد. بالا بودن شاخص کارایی تبدیل غذای خورده‌شده در حشرات پرورش یافته

روی رقم شهوار نیز مطلوبیت این میزبان برای کرم گلوگاه انار را تأیید می‌کند، زیرا این شاخص برای تعیین کیفیت غذا به‌کار می‌رود (Koul *et al*., 2004). کارایی تبدیل غذای هضم‌شده، مشخص‌کننده‌ی بخشی از غذای جذب‌شده است که به بیوماس حشره تبدیل می‌شود. این شاخص در رقم ملس دانه سیاه کم‌ترین میزان را داشت. پایین‌بودن کارایی تبدیل غذای هضم‌شده می‌تواند به‌دلیل عدم وجود عناصر غذایی مورد نیاز حشره باشد. بالا بودن این شاخص در رقم شهوار نشان از مرغوبیت این رقم برای تغذیه‌ی کرم گلوگاه انار دارد. قابلیت تقریبی هضم‌شوندگی شاخصی است که برای تخمین سهولت جذب غذا در بدن حشره به‌کار می‌رود. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی گیاه میزبان در مقدار این شاخص تأثیرگذارند. تفاوت در قابلیت تقریبی هضم‌شوندگی ممکن است از تفاوت در عناصر غذایی رژیم‌های مورد تغذیه باشد (Rezaei *et al*., 2006). در مطالعه‌ی حاضر بیش‌ترین مقدار این شاخص مربوط به رقم ملس دانه سیاه و کم‌ترین مقدار مربوط به رقم شهوار بود. نرخ رشد نسبی، کارایی تبدیل غذای هضم‌شده و کارایی تبدیل غذای خورده‌شده در لاروهای پرورش یافته روی غذایی که عناصر مورد نیاز بدن حشره را تأمین نمی‌کند پایین است ولی قابلیت تقریبی هضم‌شوندگی و نرخ مصرف نسبی در چنین لاروهایی بالا می‌باشد (Rezaei *et al*., 2006).

شاخص‌های تغذیه‌ای پروانه‌ی سفید آمریکایی، *Hyphantria cunea* Drury، روی پنج گیاه میزبان شامل توت، گردو، زردآلو، چنار و صنوبر توسط Rezaei *et al*. (2006) بررسی شد. نتایج این تحقیق نشان داد توت مطلوب‌ترین میزبان آفت می‌باشد چرا که شاخص‌های نرخ رشد نسبی، کارایی تبدیل غذای خورده‌شده و کارایی تبدیل غذای هضم‌شده در این میزبان بالاترین مقدار را داشت و مقادیر نرخ مصرف نسبی و قابلیت تقریبی هضم‌شوندگی در این میزبان پایین بود.

میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی در حشرات تحت تأثیر رژیم غذایی می‌باشد (Dow, 1986). فعالیت آنزیم‌های آلفاآمیلاز و لیپاز در حشرات پرورش یافته روی رقم شهوار بیش‌تر از فعالیت این آنزیم‌ها در دو رقم دیگر بود که این موضوع می‌تواند نشانگر وجود مواد مغذی بیش‌تر در این رقم باشد (Chapman, 1998). فعالیت آنزیم پروتئاز در حشرات پرورش یافته روی رقم ملس دانه سیاه بیش از دو رقم دیگر بود. پژوهش حاضر نشان داد که رقم ملس

دانه سیاه خاصیت غذایی کم‌تری برای کرم گلوگاه انار داشت. ممکن است خاصیت غذایی کم رقم ملس دانه سیاه به‌خاطر وجود مواد بازدارنده‌ی موجود در آن باشد. ازآنجاکه مواد بازدارنده ماهیت پروتئینی دارند، می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً میزان بالای این مواد در رقم ملس دانه سیاه باعث افزایش فعالیت پروتئازها در لوله‌ی گوارش کرم گلوگاه شده است.

Al-Izzi & Al-Maliky (1996) با مقایسه‌ی طول دوره‌ی رشد و نمو لاروهای کرم گلوگاه انار روی غذای مصنوعی و خرما چنین نتیجه گرفتند که رشد سریع آفت روی غذای مصنوعی به‌خاطر عدم وجود بازدارنده‌های آنزیمی می‌باشد. Al-Izzi *et al.* (1988) عنوان کردند که مقدار بالای Lysine در منبع غذایی، طول دوره‌ی رشد و نمو لاروها را افزایش می‌دهد و مطلوبیت منبع غذایی را برای آفت پایین می‌آورد. ممکن است وجود چنین اسیدهای آمینه در رقم ملس دانه سیاه حساسیت این رقم را به کرم گلوگاه پایین آورده باشد و همچنین باعث افزایش فعالیت پروتئازها شده باشد.

یافته‌های حاصل از این پژوهش نشان داد که کیفیت غذایی ارقام مختلف انار به کرم گلوگاه یکسان نیست و رقم شهوار در بین ارقام مورد مطالعه کارایی تغذیه‌ای بیشتری برای کرم گلوگاه انار دارد. با تکمیل مطالعات مربوط به پارامترهای دموگرافیک این حشره و جمع‌بندی اطلاعات شاید بتوان قدم‌های ابتدایی در مورد نقش ارقام مختلف انار در مورد کرم گلوگاه را به تصویر کشید و گامی برای مدیریت این آفت مهم برداشت.

منابع

Al-Izzi, M. A. J. & Al-Maliky, S. K. (1996) Action of tannic acid consumption and utilisation of food by *Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lep.: Pyralidae). *Journal of Stored Products Research* 32, 195-199.

Al-Izzi, M. A. J., Al-Maliky, S. K. & Jabbo, N. F. (1987) Culturing the carob moth, *Ectomyelois ceratoniae*, on an artificial diet. *Journal of Economic Entomology* 80, 277-280.

Al-Izzi, M. A. J., Al-Maliky, S. K. & Jabbo, N. F. (1988) Effect of supplemental dietary lysine and soybean flour on growth and fertility of *Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lep.: Pyralidae). *Journal of Economic Entomology* 81, 970-972.

Al-Rubeai, H. F. (1987) Growth and development of *Ectomyelois ceratoniae* (Lep., Pyralidae) under laboratory mass-rearing conditions. *Journal of Stored Products Research* 23, 133-136.

Bernfeld, P. (1955) Amylases, α and β. *Methods in Enzymology* 1, 149-158.

Bhat, N. S. & Bhattacharya, A. K. (1978) Consumption and utilization of soybean by *Spodoptera litura* at different temperatures. *Indian Journal of Entomology* 40, 16-25.

Bradford, M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72, 248-254.

Chapman, R. F. (1998) The insects: structure and function. 770 pp. Cambridge Unversity Press.

Chih, W. W., Li, L., Jen-Wei, L. & Shaw-Yhi, H. (2003) Host-plant utilization of two luna mouth, *Actias* spp. on *Liquidambar formosana* and *Cinnamomum camphora. Formosan Entomology* 23, 49-57.

Cohen, A. C. (1993) Organization of digestion and preliminary characterization of salivary trypsin like enzymes in a predaceous heteropteran, *Zelus renadii*. *Journal of Insect Physiology* 39, 823-829

Cox, P. D. (1976) The influence of temperature and humidity on the life-cycle of *Ectomyelois ceratoniae* (Lepidoptera: Phycitidae). *Journal of Stored Products Research* 12, 111-117.

Dhouibi, M. H. (1982) Etude bioecologique d'*Ectomyeloies ceratoniae* (Lepidoptera: Pyralidae) dans les zones preahariennes dela Tunisie. These de Docteur Ingenieur. University Piarreet Marie Curie, Paris, France.

Dow, J. A. (1986) Insect midgut function. *Advances in Insect physiology* 19, 187-328.

Echlin, T. D. (1982) Carob moth in California: new state record. *California Department of Food and Agriculture*, *Memo*, Nov. 26.

Huang, Y. & Ho, S. H. (1998) Toxicity and antifeedant activity of cinnamaldehyde against the grain storage insect *Tribolium castaneum* and *Sitophilus zeamais. Journal of Stored Products Research* 34, 11-17.

Jamjanyn, T. & Quisenberry, S. S. (1988) Fall armyworm (Lep.: Noctuidae) consumption and utilization of nine bermudagrasses. *Journal of Economic Entomology* 81, 697-704.

Kogan, M. (1973) Intake and utilization of natural diets by the Mexican bean beetle, *Epilachna varivestis*: *a multivariate analysis*. pp. 107-126 in Rodriguez, J. G. (Ed.)

Insect and mite nutrition, significance and implications in ecology and pest management. 702 pp. North Holand, Amesterdam, Netherlands.

Koul, O., Singh, G., Singh, J., Daniewski, W. M. & Berlozeeki, S. (2004) Bioefficacy and mode of action of some limonoids of solannin group from *Azadirachta indica* and their role in a multi component system against Lepidopteran larvae. *Journal of Biosciences* 29(4), 409-416.

Lazarevic, J. & Peric-Mataruga, V. (2003) Nutritive stress effects on growth and digestive physiology of *Lymantria dispar* larvae. *Yugoslavian Medical Biochemistry* 22, 53-56.

Moawad, G. M. (1979) Ecological studies on the pomegranate fruit moth, *Ectomyeloies ceratoniae* (Lep.: Pyralidae) in Saudi Arabia. *Indian Journal of Agricultural Sciences* 49, 739-741.

Navarro, S., Donahaye, E. & Calderon, M. (1986) Development of the carob moth *Spectrobates ceratoniae* on stored almonds. *Phytoparasitica* 14, 177-186.

Norouzi, A., Talebi, A. A. & Fathipour, Y. (2008) Development and demographic parameters of the carob moth *Apomyelois ceratoniae* on four diet regimes. *Bulletin of Insectology* 61, 291-297.

Ranjbar, M. Sendi, J. J. & Zibaee, A. (2011) Proteolytic activity in the midgut of *Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lep.: Pyralidae), pomegranate carob moth. *Invertebrate Survival Journal* 8, 132-142.

Rezaei, V., Moharramipour, S., Fathipour, Y. & Talebi, A. A. (2006) Nutritional indices and host preference of American white webworm, *Hyphantria cunea* (Lep., Arctiidae) on five host plants. *Journal of Entomological Society of Iran* 26, 57-72. [In Persian with English summary]

Scriber, J. M. & Slansky, F. J. (1981) The nutritional ecology of immature insects. *Annual Review of Entomology* 26, 183-211.

Shakeri, M. (2003) *Pests and diseases of pomegranate*. 126 pp. Tasbih publishing, Yazd. [In Persian]

Sheikhali, T., Farazmand, H. & Vafaei Shoushtari, R. (2009) Effect of stamens elimination methods on reducing damages of pomegranate fruit moth, *Ectomyelois ceratoniae* (Lep., Pyralidae). *Journal of Entomological Research* 2(1), 159-167.

Slansky, F. (1982) Insect nutrition: an adaptationist's perspective. *Florida Entomology* 65, 45-71.

SPSS (2004) *SPSS base 13.0 user's guide*. SPSS Incorporration, Chicago, IL.

Tsujita, T., Ninomiya, H. & Okuda, H. (1989) *p*-nitrophenyl butyrate hydrolyzing activity of hormone-sensitive lipase from bovine adipose tissue. *Journal of Lipid Research* 30, 997-1004.

Zibaee, A., Bandani, A. R., Kafil, M. & Ramzi, S. (2008) Characterization of α-amylase in the midgut and the salivary glands of rice striped stem borer, *Chilo suppressalis* Walker (Lep.: Crammidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology* 11, 201-205.