فصلنامه تخصصی تحقیقات حشره‌شناسی
(علمی- پژوهشی)
جلد ۸، شماره ۳، سال ۱۳۹۵، (۲۱۱-۲۲۲)

دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اراک
شاپا ۴۶۶۸-۲۰۰۸
http://jer.iau-arak.ac.ir

# اثر بذر ارقام لوبیا، کلزا و سویا روی فعالیت آلفا آمیلاز گوارشی *Helicoverpa armigera*

ندا فلاح‌نژاد مجرد[۱]، شیلا گلدسته[۲*]، زهرا رفیعی کرهرودی[۲]، رضا وفایی شوشتری[۲]

۱- دانشجوی دکتری حشره‌شناسی کشاورزی، گروه حشره‌شناسی کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک
۲- استادیار، گروه حشره‌شناسی کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک

## چکیده

فعالیت آمیلولیتیکی در معده میانی لاروهای سنین سوم، چهارم و پنجم شب‌پره (Hübner) *Helicoverpa armigera* روی لوبیا سفید (ارقام دانشکده و پاک)، لوبیا قرمز (ارقام اختر و ناز)، کلزا (ارقام اکاپی، اپرا، ساری‌گل و زرفام)، سویا (ارقام کلارک، M7، ساری و ویلیامز) و لوبیا چشم بلبلی (رقم مشهد) در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. همچنین فعالیت آمیلولیتیکی لاروهای سنین سوم، چهارم و پنجم شب‌پره *H. armigera* روی ارقام گیاهان مختلف در اسیدیته بین ۲ تا ۱۰ مطالعه شد. نتایج نشان داد کمترین فعالیت آمیلولیتیکی در لاروهای سنین سوم (۰/۴۲±۰/۰۰۵ OD/min)، چهارم (۰/۳۹±۰/۰۰۱ OD/min[۱]) و پنجم (۰/۳۶±۰/۰۰۵ OD/min) شب‌پره *H. armigera* روی گیاه کلزا رقم اکاپی بود. بیشترین فعالیت آمیلولیتیکی شب‌پره *H. armigera* در اغلب گیاهان و ارقام مختلف از جمله لوبیا سفید (رقم دانشکده)، لوبیا قرمز (رقم ناز)، کلزا (ارقام ساری‌گل و زرفام) و سویا (ارقام M7 و ویلیامز) روی لارو سن پنجم مشاهده شد. آنزیم آمیلاز در معده میانی لاروهای سنین سوم، چهارم و پنجم شب‌پره *H. armigera* در محدوده اسیدیته ۲/۰۰ تا ۱۰/۰۰ فعالیت داشت. اما مناسب‌ترین pH برای فعالیت آمیلولیتیکی در تمام سنین لاروی شب‌پره *H. armigera*، در اسیدیته ۸/۰۰ تا ۱۰/۰۰ بود. حداکثر مقدار آنزیم آمیلاز در لاروهای سنین سوم (۱/۳۴ U/mg[۲])، چهارم (۱/۷۳ U/mg) و پنجم (۱/۸۵U/mg) شب‌پره *H. armigera* روی لوبیا چشم‌بلبلی رقم مشهد و در pH برابر ۱۰/۰۰ مشاهده شد. نتایج حاصل از پژوهش حاضر در کنار سایر نتایج اکولوژیکی و زیستی شب‌پره *H. armigera* می‌تواند در توسعه و اجرای برنامه‌های مدیریتی شب‌پره *H. armigera* مورد استفاده قرار گیرد.

**واژه‌های کلیدی:** کرم قوزه‌پنبه، آنزیم گوارشی، IPM

---

[۱] OD/min (Optical Density/ minutes)

[۲] - U/mg (Units/Miligram)، Units: مقدار آنزیمی است که واکنش یک میکرومول از سوبسترا را در هر دقیقه کاتالیز می‌کند.

* نویسنده رابط، پست الکترونیکی: *s-goldasteh@iau-arak.ac.ir; z*

تاریخ دریافت مقاله (۹۵/۳/۱۹)- تاریخ پذیرش مقاله (۹۵/۷/۱۵)

## مقدمه

شب‌پره *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae)، یک آفت جهانی بوده و در اغلب نقاط جهان از جمله آسیا، اروپا، آفریقا و استرالیا سبب خسارت اقتصادی به گیاهان میزبان می‌شود (EPPO, 2003; CABI, 2007). در ایران، شب‌پره *H. armigera* برای اولین‌بار توسط افشار در سال ۱۳۱۷ از روی پنبه گزارش شد (Khanjani, 2013) و امروزه یکی از مهم‌ترین آفات پنبه، ذرت، نخود، لوبیا، سویا، کلزا و گوجه‌فرنگی است (FAO, 1994; Fathipour & Naseri, 2011; Karimi *et al*., 2012; Hemati *et al*., 2013; Baghery *et al*., 2014; Chegeni *et al*., 2014; Kouhi *et al*., 2014; Naseri *et al*., 2014). لاروهای این آفت قادر به تغذیه از ساقه، برگ، گل، جوانه و میوه گیاه میزبان هستند. همچنین لاروها با سوراخ کردن اندام‌های زایشی گیاه میزبان علاوه بر تغذیه از بخش‌های داخلی آن، شرایط را برای فعالیت پاتوژن‌ها فراهم نموده و سبب خسارت بالایی به گیاه میزبان می‌شوند (EFSA PLH Panel, 2014). بنابراین استفاده از راه‌کارهای مدیریتی مناسب علیه این آفت ضروری است.

امروزه استفاده از روش‌های جدید و کم‌خطر برای انسان، محیط زیست و موجودات غیرهدف علیه آفات مورد توجه قرار گرفته است (Isman, 2000; Ebadollahi *et al*., 2010). یکی از روش‌های مناسب برای مبارزه علیه شب‌پره *H. armigera*، استفاده از مهارکننده‌های آنزیم‌های ضروری گوارشی در این حشره است (Franco *et al*., 2002). مهارکننده‌های موثر آنزیم‌های گوارشی باید در غلظت‌های پایین و در اسیدیته معده و یا غدد بزاقی حشره قادر به مهارکنندگی قابل توجه آنزیم‌های گوارشی شده، همچنین در برابر حمله پروتئازهای معده و غدد بزاقی حشره مقاوم باشند (Valencia-Jimenez *et al*., 2000).

آنزیم آلفا-آمیلاز یکی از مهم‌ترین آنزیم‌های گوارشی است که برای شکستن و استفاده از نشاسته موجود در منابع غذایی ضروری است (Valencia-Jimenez *et al*., 2008). این آنزیم نشاسته را به مالتوز تبدیل می‌کند، سپس مالتوز توسط آنزیم آلفا-گلوکوزیداز به گلوکز تبدیل می‌شود (Terra *et al*., 1996). استفاده از مهارکننده‌های این آنزیم منجر به کاهش کسب مواد غذایی و در نهایت مرگ حشرات در اثر گرسنگی می‌شود (Isman, 2006; Hosseini-Naveh *et al*., 2007). مهارکننده‌های آنزیم‌های گوارشی (از جمله آلفا-آمیلازها) در دانه‌ها و اندام‌های رویشی گیاهان عالی وجود دارند و مانع فعالیت آنزیم‌های گوارشی در حشراتی می‌شوند که از آن‌ها تغذیه می‌کنند اما روی آنزیم‌های خود گیاه بی‌تاثیر هستند (Mehrabadi *et al*., 2012). ژن‌های کدکننده مهارکننده‌های آنزیم‌ها را می‌توان از گیاهان حاوی این ژن‌ها به سایر گیاهان انتقال داد تا مقاومت آن‌ها در برابر آفات و قارچ‌ها افزایش یابد (Franco *et al*., 2002).

تا کنون مطالعاتی در زمینه بررسی فعالیت آنزیم‌های گوارشی از جمله آنزیم آلفا-آمیلاز در لاروهای شب‌پره *H. armigera* روی عصاره پروتیینی تریتیکاله (Dastjerdi & Bandani, 2012)، روی رژیم‌های غذایی مصنوعی مختلف بر اساس بذر پودر شده هیبریدهای مختلف ذرت (Naseri & Razmjou, 2013)، روی رژیم‌های غذایی مصنوعی بر اساس بذر پودر شده نخود، لوبیا چشم بلبلی، لوبیا چیتی، سویا و ذرت (Baghery *et al*., 2014) انجام شده است. اما با توجه اهمیت آفت، مطالعات بیشتر در زمینه بررسی فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز *H. armigera* با تغذیه از رژیم‌های غذایی مصنوعی مختلف مورد نیاز است. بنابراین، هدف از این مطالعه بررسی فعالیت آنزیم گوارشی آلفا-آمیلاز لاروهای *H. armigera* تغذیه شده با رژیم غذایی مصنوعی بر مبنای دانه‌های ارقام مختلف لوبیا، کلزا و سویا است. تحقیق در این زمینه می‌تواند در تعیین موثرترین گیاه و رقم در کاهش فعالیت آنزیم گوارشی آلفا-آمیلاز

شب‌پره *H. armigera* مورد استفاده قرار گیرد. نتیجه حاصل از این تحقیق می‌تواند در کنترل شب‌پره *H. armigera* موثر باشد.

## مواد و روش‌ها

### تهیه بذر

بذرهای لوبیا سفید (ارقام دانشکده و پاک)، لوبیا قرمز (ارقام اختر و ناز)، کلزا (ارقام اکاپی، اپرا، ساری‌گل و زرفام) و سویا (ارقام کلارک، M7، ساری و ویلیامز) از مرکز تحقیقات ورامین و بذر لوبیا چیتی (رقم مشهد) از موسسه تحقیقات تهیه و اصلاح نهال و بذر کرج فراهم گردید. بذرهای ارقام مختلف گیاهان مورد مطالعه جداگانه پودر شده و برای انجام بررسی‌ها در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند.

### پرورش شب‌پره *H. armigera*

تخم‌های شب‌پره *H. armigera* در تیر ماه ۱۳۹۲ از مزارع ذرت واقع در دشت مغان، اردبیل جمع‌آوری شدند. تخم‌ها در شرایط آزمایشگاهی در اتاقک رشد با شرایط دمایی ۱±۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. لاروها پس از تفریخ روی غذای مصنوعی تهیه شده با بذر ارقام مختلف لوبیا، کلزا و سویا حداقل ۴ نسل پرورش یافتند.

به‌منظور حفظ کلنی شب‌پره *H. armigera* و انجام آزمایش‌ها، از رژیم غذایی مصنوعی استفاده شد. رژیم غذایی مصنوعی بر اساس بذرهای پودر شده هر یک از ارقام گیاهان مختلف تهیه شد. ترکیبات رژیم غذایی شامل ۲۰۵ گرم بذر پودر شده، ۱۴ گرم آگار، ۱/۱ گرم اسید سوربیک، ۳/۵ گرم اسید آسکوربیک، ۲/۲ گرم متیل- پارا هیدروکسی بنزوات، ۳۰ گرم جوانه گندم، ۲/۵ میلی‌لیتر فرمالدهید ۳۷٪، ۵ میلی‌لیتر روغن آفتابگردان و ۶۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر بود (Twine, 1971).

### جداسازی اندام گوارشی و استخراج آنزیم

لاروهای سنین سوم، چهارم و پنجم شب‌پره *H. armigera*، پس از این‌که ۲۴ ساعت از رژیم غذایی مصنوعی تغذیه کردند، روی یخ بی‌حس شدند و سطح شکمی لاروها در زیر استریومیکروسکوپ تشریح شد. روده میانی لاروها (برای هر سن لاروی، روده میانی ۵ لارو جدا شد) پس از جداسازی از سایر قسمت‌ها، در میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتر به همراه ۱ میلی‌لیتر آب مقطر سرد قرار داده شدند. برای استخراج آنزیم موجود در نمونه‌ها، روده میانی لاروها با استفاده از یک هموژنایزر دستی روی یخ همگن شده و مخلوط‌های همگن در دمای ۴ درجه سلسیوس با سرعت ۱۶۰۰۰ (دور در دقیقه) به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. بخش بالایی نمونه‌های حاصل به‌عنوان منبع آنزیمی در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند (Hosseini Naveh *et al*., 2007).

### تعیین فعالیت آمیلولیتیکی کل

فعالیت آمیلولیتیکی با استفاده از روش دی‌نیتروسالسیلیک اسید (DNSA) انجام شد (Bernfeld, 1955). در این روش از محلول نشاسته ۱٪ به‌عنوان سوبسترا استفاده شد. هر واحد آزمایشی شامل ۲۵۰ میکرولیتر بافر با اسیدتیه مورد نظر (اسیدتیه ۲ تا۱۰)، ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی حاصل از لاروهای پرورش یافته روی غذای مصنوعی و ۲۰ میکرولیتر محلول نشاسته بود. ترکیب مورد نظر به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سلسیوس نگهداری شد. سپس ۵۰ میکرولیتر معرف رنگی DNSA به آن‌ها اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آبی قرار گرفتند. بعد از ۵ دقیقه سانتریفیوژ در (×g)۱۶۰۰۰ (دور در دقیقه) در دمای ۴ درجه سلسیوس، جذب هر کدام در طول موج ۵۴۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر تعیین شد. آزمایش در سه تکرار (برای هر تکرار ۵ عدد لارو) به همراه یک بلانک (شاهد) برای هر اسیدتیه انجام شد.

### بررسی اسیدیته مناسب برای فعالیت آمیلولیتیک کل

برای انجام آزمایش‌های مربوط به تعیین اسیدیته مناسب برای فعالیت آمیلولیتیک کل از بافر سوکسینات-گلایسین-۲ مورفولینواتان سولفونیک اسید ۱۰ میلی‌مولار (با اسیدیته‌های ۲/۰۰ تا ۱۰/۰۰) استفاده شد (Naseri *et al*., 2010).

### تجزیه آماری

مقایسه میانگین‌ها از طریق تجزیه واریانس یک طرفه (One way ANOVA)، آزمون Tukey در سطح احتمال ۵ درصد و با نرم‌افزار SPSS 18. 1 (SPSS, 2009) انجام شد. برای رسم نمودارها از برنامه Excel 2007 استفاده شد.

## نتایج

فعالیت آمیلولیتیکی کل عصاره روده میانی لاروهای سنین سوم تا پنجم *H. armigera* روی غذای مصنوعی بر مبنای بذر ارقام مختلف لوبیا، کلزا و سویا، بر اساس منحنی استاندارد مالتوز در جدول ۱ نشان داده شده است. فعالیت آمیلولیتیکی کل روده میانی شب‌پره *H. armigera* روی لاروهای سنین سوم، چهارم و پنجم تحت تاثیر ارقام مختلف قرار داشت. بیشترین و کمترین فعالیت آمیلولیتیکی در لاروهای سن سوم *H. armigera* به‌ترتیب روی سویا رقم M7 (۲/۵۶±۰/۰۰۱ OD/min) و کلزا رقم اکاپی (۰/۴۲±۰/۰۰۵ OD/min) مشاهده شد ( $F$= 1245.8; $df$= 12, 26; $P$ < 0.001). لاورهای سن چهارم شب‌پره *H. armigera* تغذیه شده روی لوبیا قرمز رقم ناز (۲/۵۷±۰/۰۱۳ OD/min) دارای بیشترین و روی کلزا رقم اکاپی (۰/۳۹±۰/۰۰۱ OD/min) دارای کمترین فعالیت آمیلولیتیکی بودند ($F$=860.808; $df$=12, 26; $P$ < 0.001). فعالیت آمیلولیتیکی لاروهای سن پنجم روی سویا رقم M7 بیشترین (۲/۶۲±۰/۰۰۵ OD/min) و روی کلزا رقم اکاپی (۰/۳۶±۰/۰۰۵ OD/min) و سویا رقم کلارک (۰/۳۹±۰/۰۰۵ OD/min) کمترین بود ($F$= 1173.537 ; $df$= 12, 26; $P$ < 0.001).

فعالیت آمیلولیتیکی شب‌پره *H. armigera* روی ارقام مختلف گونه‌های مختلف روی سنین مختلف لاروی متفاوت بود (جدول ۱). به‌طوری‌که بیشترین فعالیت آمیلولیتیکی شب‌پره *H. armigera* در اغلب گیاهان و ارقام

مختلف از جمله لوبیا سفید (رقم دانشکده) ($F$=2973.429; $df$=2, 6; $P$ < 0.01)، لوبیا قرمز (رقم ناز) ( $F$=1311.221; $df$=2, 6; $P$ < 0.01)، کلزا (ارقام ساری‌گل و زرفام) ($F$=27; $df$=2, 6; $P$ < 0.01; $F$=27; $df$=2, 6; $P$ < 0.01) و سویا (ارقام M7 و ویلیامز) ($F$=15.570; $df$=2, 6; $P$ < 0.01; $F$=7.818; $df$=2, 6; $P$ < 0.01) روی لارو سن پنجم مشاهده شد (جدول ۱).

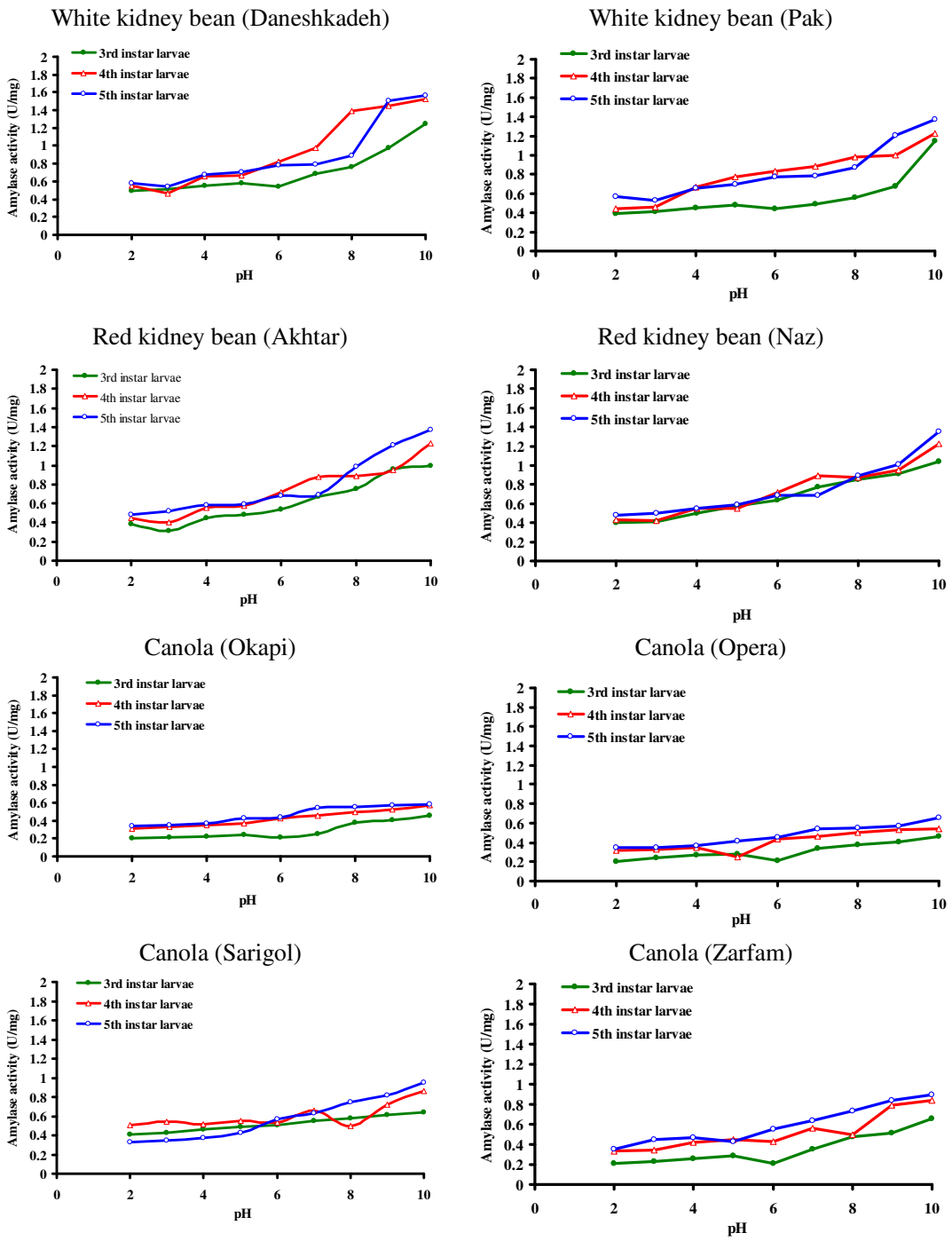
فعالیت آمیلولیتیکی در لاروهای سنین سوم، چهارم و پنجم در اسیدیته‌های مختلف (pH =۲/۰۰ تا ۱۰/۰۰) روی ارقام گیاهان مختلف در شکل ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان داد آنزیم آمیلاز در محدوده وسیعی از pHهای مورد بررسی فعالیت دارد. اما بیشترین فعالیت آنزیم آمیلاز در تمامی گیاهان و ارقام مورد مطالعه در pH، ۸/۰۰ تا ۱۰/۰۰ مشاهده شد. فعالیت آنزیم آمیلاز در لاروهای سنین مختلف تحت تاثیر گیاه و رقم مورد مطالعه قرار داشت به‌طوری‌که بیشترین فعالیت آمیلولیتیکی کل در لاروهای سن سوم (۱/۳۴ U/mg)، چهارم (۱/۷۳ U/mg) و پنجم (۱/۸۵ U/mg) شب‌پره *H. armigera* روی لوبیا چشم بلبلی رقم مشهد و در pH = ۱۰/۰۰ مشاهده شد (شکل ۱). در اسیدیته ۸/۰۰ تا ۱۰/۰۰، کمترین فعالیت آمیلولیتیکی کل روی لاروهای سن سوم، چهارم و پنجم شب‌پره *H. armigera* به‌ترتیب برابر ۰/۲۸ روی سویا رقم کلارک، ۰/۳۲ و ۰/۴۶ (U/mg) روی سویا رقم M7 به‌دست آمد. همچنین، فعالیت آمیلولیتیکی شب‌پره *H. armigera* با افزایش سن لاورها افزایش یافت به‌طوری‌که فعالیت آمیلولیتیکی در لاروهای سنین چهارم و پنجم نسبت به لاروهای سنین سوم بیشتر بود.

**جدول ۱- فعالیت آمیلولیتیکی کل عصاره روده میانی لاروهای سن سوم تا پنجم *Helicoverpa armigera* روی غذای مصنوعی برمبنای بذر ارقام مختلف لوبیا، کلزا و سویا**

**Table 1- Total amylolytic activity of midgut extracts of 3rd, 4th and 5th instar larvae of *Helicoverpa armigera* on artificial diets based on the seeds of different host plant (Bean, Canola and Soybean)**

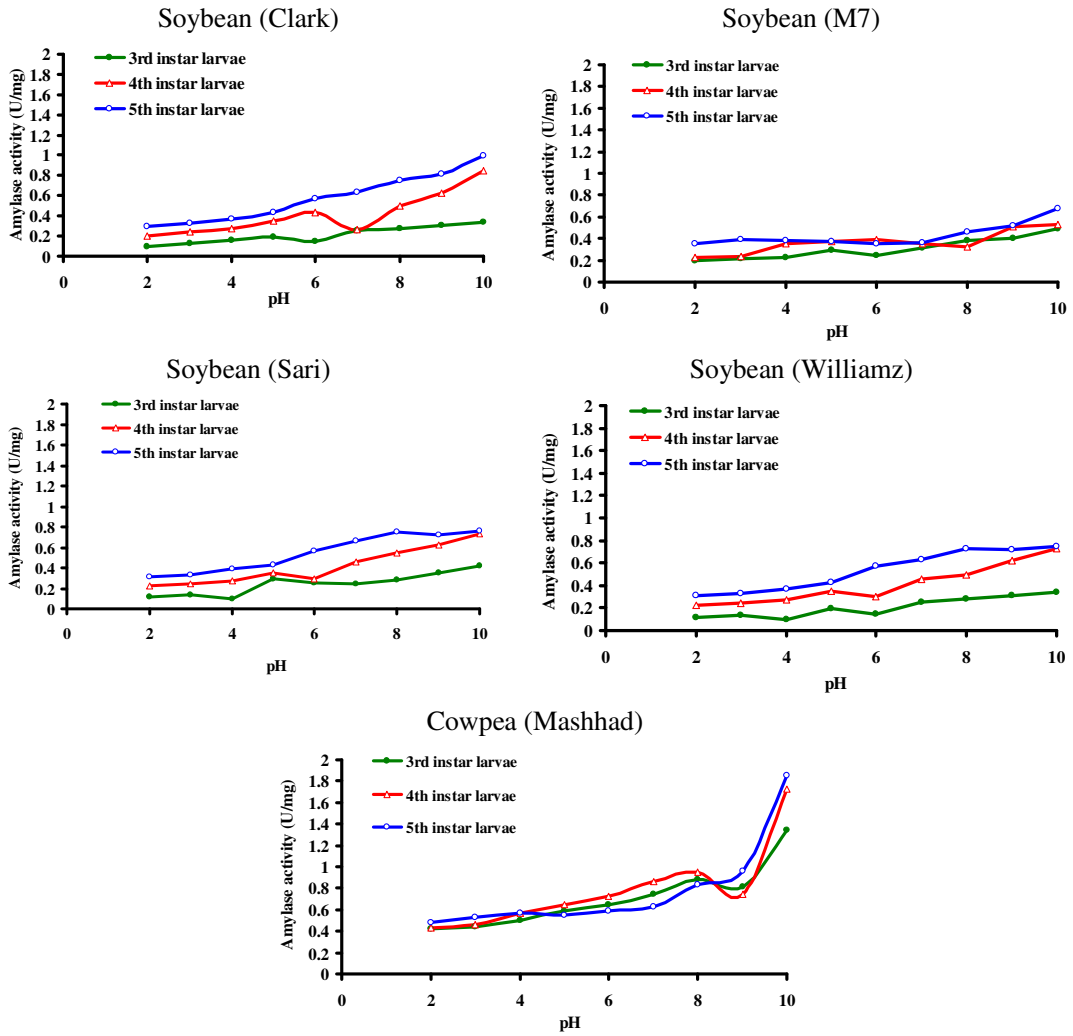
| Host (Cultivars) | Amylolytic activity (OD/min) | | |
|---|---|---|---|
| | Larval instar | | |
| | 3rd instar larvae | 4th instar larvae | 5th instar larvae |
| White Kidney bean (Danshkadeh) | 1.20±0.000 b,B | 1.19±0.003 c,B | 1.87±0.012 b,A |
| White Kidney bean (Pak) | 1.18±0.005 bc,A | 1.15±0.005 c,B | 1.10±0.000 c,C |
| Red Kidney bean (Akhtar) | 0.98±0.005 d,B | 1.13±0.033 c,A | 1.00±0.000 d,B |
| Red Kidney bean (Naz) | 1.10±0.00 c,A | 2.57±0.013 a,A | 1.00±0.00 d,A |
| Canola (Okapi) | 0.42±0.005 I,A | 0.39±0.001 g,B | 0.36±0.005 i,C |
| Canola (Opera) | 0.51±0.005 fgh,A | 0.48±0.005 efg,B | 0.45±0.005 h,C |
| Canola (Sarigol) | 0.66±0.005 e,C | 0.69±0.005 d,B | 0.72±0.006 e,A |
| Canola (Zarfam) | 0.54±0.005 f,C | 0.57±0.005 abc,B | 0.60±0.005 f,A |
| Soybean (Clark) | 0.45±0.005 ghi,A | 0.42±0.005 fg,B | 0.39±0.005 i,C |
| Soybean (M7) | 2.56±0.001 a,B | 1.20±0.013 c,B | 2.62±0.005 a,A |
| Soybean Sari | 0.43±0.005 hi,A | 0.43±0.028 fg,A | 0.47±0.009 h,A |
| Soybean (Williams) | 0.52±0.005 fg,B | 0.51±0.013 ef,B | 0.56±0.005 g,A |
| Cowpea (Mashhad) | 1.20±0.05 b,B | 1.50±0.057 b,A | 0.62±0.006 f,C |

*Similar small letters (a, b, c, d, e, f, g, h, i) in the columns and similar capital letters (A, B, C) in the rows indicate no significant differences between mean numbers (P < 0.05, Tukey's test)




**شکل ۱- فعالیت آمیلولیتیکی کل عصاره روده میانی سنین سوم، چهارم و پنجم لاروی *Helicoverpa armigera* در pHهای مختلف روی غذای مصنوعی برمبنای ارقام مختلف لوبیا، کلزا و سویا**

**Fig. 1- The total amylolytic activity in the midgut of 3rd, 4th and 5th instar larvae of *Helicoverpa armigera* in a broad pH range on artificial diets based on the seeds of different host plant (Bean, Canola and Soybean)**




**ادامه شکل ۱- فعالیت آمیلولیتیکی کل عصاره روده میانی سنین سوم، چهارم و پنجم لاروی *Helicoverpa armigera* در pHهای مختلف روی غذای مصنوعی برمبنای ارقام مختلف لوبیا، کلزا و سویا**

**Continued fig. 1- The total amylolytic activity in the midgut of 3rd, 4th and 5th instar larvae of *Helicoverpa armigera* in a broad pH range on artificial diets based on the seeds of different host plant (Bean, Canola and Soybean)**

## بحث

علاوه بر اندازه‌گیری پارامترهای جدول زندگی و ویژگی‌های زیستی حشرات آفت، تعیین فعالیت آنزیم‌های گوارشی در حشراتی که روی ارقام مختلف گیاهان تغذیه شده‌اند می‌تواند در انتخاب حساسیت و مقاومت گیاهان نسبت به حشرات آفت موثر باشد (Patankar *et al*., 2001). وجود ترکیبات مهارکننده آنزیم‌های گوارشی در برخی گیاهان، سبب تخریب آنزیم‌های گوارشی در حشراتی می‌شود که از آن‌ها تغذیه می‌کنند که این امر در نهایت منجر به کاهش کسب مواد غذایی در حشرات و افزایش مرگ و میر آن‌ها می‌شود (Isman, 2006).

نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد فعالیت آمیلولیتیکی در معده میانی شب‌پره *H. armigera* تحت تاثیر ارقام مختلف گیاهی و سنین لاروی قرار دارد.

کمترین فعالیت آمیلولیتیکی در تمام سنین لاروی روی گیاه کلزا رقم اکاپی مشاهده شد. تاثیر گیاهان و ارقام متفاوت آن‌ها بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی حشرات آفت در تحقیقات گذشته نیز تایید شده است (Khan, 2011; Borzouei *et al*., 2013; Naseri & Razmjou, 2013; Baghery *et al*., 2014 ). نتایج حاصل از تحقیق ناصری و رزمجو (۲۰۱۳) نشان دادند بیشترین فعالیت آمیلولیتیک معده میانی لاروهای سن پنجم شب‌پره *H. armigera* روی رژیم غذایی مصنوعی حاوی بذر ذرت هیبرید DC370 (۰/۰۵۵±۰/۰۰۱ mU/mg) و SC500 (۰/۰۴۷±۰/۰۰۷ mU/mg) و کمترین فعالیت روی رژیم غذایی مصنوعی حاوی بذر ذرت هیبرید SC704 (mU/mg ۰/۰۱۲±۰/۰۰۱) است. در تحقیق انجام شده توسط باقری و همکاران (۲۰۱۴)، نتایج حاصل از بررسی فعالیت آمیلولیتیک معده میانی شب‌پره *H. armigera* روی رژیم‌های غذایی مصنوعی مختلف تهیه شده با بذر نخود، لوبیا چشم بلبلی، سویا، لوبیا چیتی و ذرت نشان داد بیشترین و کمترین فعالیت آمیلولیتیک معده میانی لاروها، به‌ترتیب روی رژیم غذایی مصنوعی تهیه شده با بذر لوبیا چشم‌بلبلی (۱/۰۴±۰/۰۱۱ روی لارو سن سوم، ۱/۰۳±۰/۱۰۸ روی لارو سن چهارم و ۱/۰۵±۰/۰۴۵ (OD/min) روی لارو سن پنجم) و ذرت (۰/۳۸۸±۰/۰۷۴ روی لارو سن سوم، ۰/۴۸۵±۰/۰۷۵ روی لارو سن چهارم و ۰/۵۱۳±۰/۰۹۳ (OD/min) روی لارو سن پنجم) است.

در اغلب گیاهان و ارقام بررسی شده در این تحقیق، فعالیت آنزیم آمیلاز در معده میانی با افزایش سن لاروها افزایش یافت. به‌طوری‌که بیشترین فعالیت آمیلولیتیکی روی لاروهای سن پنجم روی گیاه سویا رقم M7 مشاهده شد. بیشتر بودن فعالیت آمیلولیتیکی در لاورهای سن پنجم شب‌پره *H. armigera* نسبت به سایر سنین لاروی در تحقیقات گذشته نیز گزارش شده‌است (Patankar *et al*., 2001; Kotkar *et al*., 2009; Baghery *et al*., 2014). فعالیت آنزیم‌های گوارشی در سنین مختلف حشرات متفاوت است زیرا سنین مختلف حشرات دارای رفتارهای تغذیه‌ای متفاوت هستند. حشرات سنین بالاتر به‌دلیل جثه بزرگتر نیازهای تغذیه‌ای بیشتری داشته، بنابراین فعالیت آنزیم‌های گوارشی آن‌ها بیشتر از سایر سنین است (Mohammadi *et al*., 2010).

میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی در حشرات مختلف بسته به اسیدیته دستگاه گوارش آن‌ها متفاوت است. تمام آنزیم‌های گوارشی در یک بازه معین pH، دارای فعالیت بهینه هستند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد آنزیم آلفا-آمیلاز در معده میانی شب‌پره *H. armigera* در محدوده وسیعی از pHهای اسیدی تا قلیایی (۲/۰۰ تا ۱۰/۰۰) فعالیت دارد. اما بیشترین فعالیت این آنزیم روی ارقام مختلف گیاهان و سنین مختلف لاروی شب‌پره *H. armigera* در دامنه ۸/۰۰-۱۰/۰۰ (اسیدیته قلیایی) مشاهده شد. بیشترین فعالیت آمیلولیتیکی شب‌پره *H. armigera* پرورش یافته روی هیبریدهای مختلف ذرت در pH، ۱۰/۰۰ مشاهده شد (Naseri *et al*., 2010). فعالیت آنزیم آمیلاز در معده میانی شب‌پره *H. armigera* تغذیه شده با گیاهان مختلف، در pH برابر ۹/۰۰ بیشتر بود (Hemati *et al*., 2011). همچنین بررسی بیوشیمیایی آنزیم‌های آمیلاز در کرم ابریشم (*Bombyx mori* L.) نشان داد که این آنزیم در pH، ۲/۰۰ تا ۹/۰۰ فعالیت می‌کند (Abraham *et al*., 1992).

مطالعه حاضر نشان داد رژیم غذایی مصنوعی حاوی بذر پودر شده کلزا رقم اکاپی نسبت به سایر ارقام دیگر کلزا و سایر گیاهان برای پرورش شب‌پره *H. armigera* نامناسب‌تر است. به عبارت دیگر میزان تغذیه شب‌پره *H. armigera* که روی رژیم غذایی مصنوعی بر اساس بذرهای کلزا رقم اکاپی پرورش یافته بود نسبت به سایر ارقام و گیاهان مورد مطالعه کمتر بود. از آن‌جا که پرورش آفات کلیدی روی رژیم‌های غذایی مصنوعی اطلاعات مفیدی در مورد بیولوژی آفت در اختیار قرار می‌دهد و این امر می‌تواند برای پرورش و چگونگی عملکرد عوامل کنترل

بیولوژیک آن‌ها و واکنش آفات به سموم شیمیایی مناسب باشد (Cohen, 2001; Castane & Zapata, 2005)، بنابراین اطلاعات حاصل از این تحقیق می‌تواند در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات (IPM) شب‌پره *H. armigera* مورد استفاده قرار گیرد. اگرچه بررسی‌های بیشتری در زمینه استخراج و مطالعه ترکیب موجود در گیاه کلزا رقم اکاپی که دارای خاصیت مهارکنندگی آنزیم آمیلاز در شب‌پره *H. armigera* می‌شود، نیز توصیه می‌شود. همچنین برای تصمیم‌گیری دقیق‌تر، مطالعات بیشتری در زمینه بررسی ویژگی‌های جدول زندگی این آفت روی گیاهان و ارقام نام‌برده ضروری است.

**سپاسگزاری**

نگارندگان از حمایت‌های گروه حشره‌شناسی کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک تشکر می‌نمایند. همچنین از آزمایشگاه پروژه سبزی پاک کوثر میدان میوه و تره‌بار مرکزی و آزمایشگاه مرجعان خاتم به‌دلیل فراهم نمودن امکانات آزمایشگاهی برای انجام تحقیق حاضر قدردانی می‌شود.

## References

**Abraham, E. G., Nagaraju, T. J. and Datta, R. K. 1992.** Biochemical Studies of Amylases in The Silkworm, *Bombyx mori* L.: Comparative Analysis in Diapausing and Nondiapausing Strains. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 22(8): 867-873.

**Baghery, F., Fathipour, Y. and Naseri, B. 2014.** Digestive proteolytic and amylolytic activities in *Helicoverpa armigera* (Lep.: Noctuidae) larvae fed on five host plants. Journal of Crop Protection, 3(2): 191-198.

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

**Borzouei, E., Bandani, A. R. and Moslemi, A. 2013.** Inhibitory effect of wheat seed cultivars extract s on digestive alpha amylase activity of Colorado potato beetle. Plant Pests Research, 2 (4): 15-26.

**CABI. 2007.** Crop Protection Compendium. Commonweath Agricultural Bureau, International. http://www.cabicompendium.org/.

**Castane, C. and Zapata, R. 2005**. Rearing the predatory bug *Macrolophus caliginosus* on a meat based diet. Biological Control, 34: 66-72.

**Chegeni, E., Fathipour, Y. and Moharramipour, S. 2014.** Oviposition preference of *Helicoverpa armigera* on 10 canola cultivars under laboratory and semi-field conditions. Applied Entomology and Phytopathology, 81(2): 97-108.

**Cohen, A. C. 2001**. Formalizing insect rearing and artificial diet technology. American Entomologist, 47: 198-206.

**Dastjerdi, M. and Bandani, A. 2012.** Effect of proteinaceous extract of triticale seed extract on α-amylase activity of *Helicoverpa armigera*. Plant Pest Research, 2 (1): 49-57.

**Ebadollahi, A., Safaralizadeh, M. H., Hoseini, S. A., Ashouri, S. and Sharifian, I. 2010.** Insecticidal activity of essential oil of Agastache foeniculum against *Ephestia kuehniella* and *Plodia interpunctella* (Lep.: Pyralidae). Munis Entomology and Zoology, 5(2): 785-791.

**EFSA PLH Panel (EFSA Panel on Plant Health). 2014.** Scientific opinion on the pest categorisation of *Helicoverpa armigera* (Hübner). EFSA Journal, 12(10): 3833-2861.

**EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization). 2003.** Diagnostic protocols for regulated pests. *Helicoverpa armigera* – PM 7/19(1). Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, 33: 289–295.

**FAO. 1994.** Production Year Book. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy. 243 pp.

**Fathipour, Y. and Naseri, B. 2011.** Soybean Cultivars Affecting Performance of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae), pp: 599-630. In: Ng, T. B. (ed.), Soybean- Biochemistry, Chemistry and Physiology. In Tech Rijeka, Croatia,

**Franco, O. L., Rigden, D. J., Melo, F. R. and Grossi-de-Sa, M. F. 2002.** Plant α-amylase inhibitors and their interaction with insect α-amylases: Structure, function and potential for crop protection. European Journal of Biochemistry, 269: 397-412.

**Hemati, S. A., Naseri, B., Nouri-Ghanbalani, G., Rafiee-Dastjerdi, H. and Golizadeh, A. 2011.** Digestive proteolytic and amylolytic activities of the gram pod borer *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) in response to feeding on different host plants, pp: 112. In: 2nd Iranian Pest Management Conference (IPMC), Kerman, Iran.

**Hemati, S. A., Naseri, B. and Razmjou, J. 2013.** Reproductive performance and growth indices of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) on various host plants. Journal of Crop Protection, 2(2): 193-208.

**Hosseini Naveh, V., Bandani, A., Azmayeshfard, P., Hosseinkhani, S. and Kazemi, M. 2007.** Digestive proteolytic and amylolytic activities in *Trogoderma granarium* Everts (Dermastidae : Coleoptera ). Journal of Stored Production Research, 43: 515-522.

**Isman, M. B. 2000.** Plant essential oils for pest and disease management. Crop Protection, 19: 603-608.

**Isman, M. B. 2006.** Botanical Insecticides, Deterrents, and Repellents In Modern Agriculture and an Increasingly Regulated World. Annual Review of Entomology, 51: 45–66.

**Karimi, S., Fathipour, Y., Talebi, A. A. and Naseri, B. 2012.** Evaluation of Canola Cultivars for Resistance to *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) Using Demographic Parameters. Journal of Economic Entomology, 105(6): 2172-2179.

**Khan, N. 2011.** In vitro Effects of protienaceous alpha amylase inhibitors on red flour Beetle, *Tribolium castaneum.* Science Research Reporter, 1(2): 101–104.

**Khanjani, M. 2013.** Field crop pests (insects and mites) in Iran. 6th edition. Abu-Ali Sina University Press, Hamadan, Iran. (In Persian). 720 pp.

**Kotkar, H. M., Sarate, P. J., Tamhane, V. A., Gupta, V. S. and Giri, A. P. 2009.** Responses of midgut amylases of *Helicoverpa armigera* to feeding on various host plants. Journal of Insect Physiology, 55: 663-670.

**Kouhi, D., Naseri, B. and Golizadeh, A. 2014.** Nutritional performance of the tomato fruit borer, *Helicoverpa armigera*, on different tomato cultivars. Journal of Insect Science, 14(2): 1-12.

**Mehrabadi, M., Bandani, A. R., Mehrabadi, R. and Alizadeh, H. 2012.** Inhibitory activity of proteinaceous α-amylase inhibitors from Triticale seeds against *Eurygaster integriceps* salivary α-amylases: Interaction of the inhibitors and the insect digestive enzymes. Pesticide Biochemistry and PHysiology, 102: 220-228.

**Mohammadi, D., Pour Abad, R. F., Rashidi, M. R. and Mohammadi, S. A. 2010.** Activity and some properties of *Helicoverpa armigera* Hübner and *Spodoptera exigua* Hübner (Lep.: Noctuidae) midgut protease. Munis Entomology and Zoology, 5 (2): 697-706.

**Naseri, B., Fathipour, Y., Moharramipour, S., Hosseininaveh, V. and Gatehouse, A. M. R 2010.** Digestive proteolytic and amylolytic activities of *Helicoverpa armigera* in response to feeding on different soybean cultivars. Pest Management Science, 66: 1316-23.

**Naseri, B., Golparvar, Z., Razmjou, J. and Golizadeh, A. 2014.** Age-stage, Two-sex Life Table of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) on Different Bean Cultivars. Journal of Agricultural Science and Technology, 16: 19-32.

**Naseri, B. and Razmjou, J. 2013.** Effect of artificial diets containing different maize hybrids powdered seeds on digestive proteolytic and amylolytic activities and nutritional responses of *Helicoverpa armigera* (Lep.: Noctuidae). Applied Entomology and Phytopathology, 80 (2): 9-17.

**Patankar, A. G., Giri, A. P., Harsulkar, A. M., Sainani, M. N., Deshpande, V. V., Ranjekar, P. K. and Gupta, V. S. 2001.** Complexity in specificities and expression of *Helicoverpa armigera* gut proteases explains polyphagous nature of the insect pest. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 31: 453-464.

**SPSS. 2009.** SPSS Base18.0 Users Guide. SPSS, Chicago, IL.

**Terra, W. R., Ferreia, C. and Baker, J. E. 1996.** Compartmentalization of digestion, pp: 207-235. In: Lehane, M. J. and Billingsley, P. F. (eds.), Biology of the Insect Midgut, Chapman and Hall, London.

**Twine, B. H. 1971.** Cannibalistic behaviour of *Heliothis armigera* (Hübner). Queensl. Journal of Agriculture and Animal Science, 28: 153-157.

**Valencia-Jimenez, A., Arboleda, V. J. W., Avila, A. L. and Grossi-de-Sa, M. F. 2008.** Digestive amylases from *Tecia solanivora* larvae (Lepidoptera: Gelechiidae): response to pH, temperature and plant amylase inhibitors. Bulletin of Entomological Research, 98: 575–579**.**

**Valencia-Jimenez, A., Bustillo, A. E., Ossa, G. E. and Chrispeels, M. J. 2000.** α-amylase of the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*) and their inhibition by two plant amylase inhibitors. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 30: 207-213.

*Journal of Entomological Research*

Volume 8, Issue 3, pages: 211-222

*Islamic Azad University, Arak Branch*
*ISSN 2008-4668*
*http://jer.iau-arak.ac.ir*

# The effect of seeds of bean, canola and soybean cultivars on α-amylase digestive activity of *Helicoverpa armigera*

***N. Fallahnejad-Mojarrad[1], Sh. Goldasteh[2*], Z. Rafiei-Karahroudi[2], R. Vafaei Shoushtari[2]***

1- Ph. D. Student, Department of Entomology, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak, Iran
2- Assistant Professor, Department of Entomology, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak, Iran

## Abstract

Digestive amylolytic activities in the midgut of 3rd, 4th and 5th instar larvae of *Helicoverpa armigera* (Hübner) on different host plants including white kidney bean (cultivars Daneshkadeh and Pak), red kidney bean (cultivars Akhtar and Naz), canola (cultivars Okapi, Opera, Sarigol and Zarfam), soybean (cultivars Clark, M7, Sari and Williams) and cowpea (cultivar Mashhad) were investigated under laboratory conditions. The amylolytic activity in 3rd, 4th and 5th instar larvae of *H. armigera* on different host plants in a broad pH range (pH 2–10) were studied. The results showed that the larva fed on canola cultivar Okapi had the lowest amylase activity on 3rd (0.42±0.005 OD/min), 4th (0.39±0.001 OD/min) and 5th (0.36±0.005 OD/min) instar larva. The highest enzyme activity was in 5th instar larvae of *H. armigera* on most plant cultivars (white kidney bean cultivars Daneshkadeh, red kidney bean cultivar Naz, canola cultivars Sarigol and Zarfam, soybean cultivars M7 and Williams). The amylolytic activity in 3rd, 4th and 5th instar larva of *H. armigera* was observed at pH 2.00 to 10.00. But the optimum p Hof amylase activity in the midgut of *H. armigera* larva was at pH 8.00 to 10.00. The maximum amylase amount in 3rd, 4th and 5th instar larva of *H. armigera* was observed on cowpea cultivar Mashhad at pH10.00 (1.34, 1.73 and 1.85 U/mg, respectively). Our findings provide useful information and when this information is used in association with other ecological and biological data, it may be valuable in development and implementation of management programs of *H. armigera*.

**Key words:** Cotton bollworm, digestive enzyme, IPM

* Corresponding Author, E-mail: *s-goldasteh@ iau-arak.ac.ir*
Received: 8 Jun. 2016 – Accepted: 6 Oct. 2016