مقاله پژوهشی

بررسی اسیدهای چرب فسفولیپیدی و تری‌گلیسریدی لاروهای شب‌پره مدیترانه‌ای آرد، (Lepidoptera: Pyralidae) *Ephestia kuehniella*

محدثه زرین‌کلاه، رضا فرشباف پورآباد*، رضا خاک‌ور*

گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

*نویسندگان مسئول: rfpourabad@yahoo.com ،khakvar@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۱۲

DOI: 10.22034/ascij.2023.1981850.1479

چکیده

شب‌پره مدیترانه‌ای آرد با نام علمی *Ephestia kuehniella* آفت انباری مهمی است که در کارخانه‌های تولید آرد باعث بروز مشکلات زیادی می‌شود. بررسی حاضر به منظور مطالعه و تعیین کمّیت و کیفیت اسیدهای‌چرب فسفولیپیدی و تری‌گلیسریدی در بدن لاروهای سنین چهارم و پنجم شب‌پره مدیترانه‌ای آرد انجام شد. بر اساس نتایج، بیشترین میزان اسید چرب فسفولیپیدی مربوط به اسید اولئیک (۱۸:۰۱) با مقدار میانگین حدود ۴۰ درصد بود. این اسید چرب با تغییرات اندک در هر دو سن چهارم و پنجم و همچنین هر دو جنس نر و ماده بالاترین مقدار را به خود اختصاص داد. کمترین مقدار را در این گروه آراشیدیک اسید با مقدار میانگین ۰/۱۱ درصد داشت که در تمام نمونه‌ها در مقادیر اندک دیده شد، هرچند مقدار آن در ماده‌ها به طور معنی‌داری بیشتر از نرها اندازه‌گیری شد. در گروه تری‌گلیسرید، دو اسید چرب میریستیک اسید (۱۴:۰۰C) و پالمیتیک اسید (۱۶:۰۰C) به ترتیب با مقادیر ۲۳ و ۲۶/۸ درصد بالاترین مقدار اسیدهای چرب را به خود اختصاص دادند و اسید چرب دکوزاهگزانوئیک اسید (DHE) با مقدار اندک ۰/۴۶ درصد کمترین مقدار را دارا بود. بیشترین تفاوت در میزان اسیدهای چرب حشرات کامل نر و ماده در دو اسید چرب DHE از گروه فسفولیپید و اسید استئاریک (۱۸:۰۰) از گروه تری‌گلیسرید ثبت گردید که در ماده‌ها به ترتیب ۵ و ۲/۲ برابر بیشتر از نرها بود. بیشترین تغییرات در بین دو سن لاروی ۴ و ۵ در گروه فسفولیپیدی مربوط به لینولنیک اسید (۱۸:۳C) و DHE بود که با افزایش سن لاروی از چهار به پنج به میزان ۵۰ درصد افزایش نشان داد. در گروه تری‌گلیسرید نیز بیشترین تغییرات مربوط به میریستیک اسید (۱۴:۰۰) و DHE بود که از سن چهارم به پنجم، کاهش چندین برابری را از خود نشان داد.

کلمات کلیدی: فسفولیپید، تری‌گلیسرید، *Ephestia kuehniella*، آرد، سنین لاروی.

مقدمه

چربی‌ها در تغذیه اکثر حشرات و جانوران اهمیت زیادی دارند به طوری که ذخیره اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع در نشوونما، زمستان‌گذرانی و حرکت نقش موثری دارد. شناختن متابولیسم چربی‌ها در حشرات باعث افزایش آگاهی‌ها از متابولیسم حشرات می‌شود (۳). مطالعه ویژگی‌های لیپیدها و اسیدهای چرب و شرایط بهینه آن مقدمه‌ای بر تحقیقات بعدی است و با تأکید روی تغییرات دمایی و تأثیر آن بر روی لیپیدها، امکان کنترل این آفت را با بر هم زدن فیزیولوژی عادی آن امکان‌پذیر می‌سازد. از

طرفی اجسام چربی علاوه بر ذخیره چربی‌ها، پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها، به عنوان مرکز سوخت-وساز و فیزیولوژی حشرات محسوب می‌شوند و در ایجاد تعادل بین ذخایر بدن و نیازهای حشرات نقش مهمی را ایفا می‌کنند (۱). معمول‌ترین راهکارهای پیشگیری و مبارزه که در مورد بید مدیترانه‌ای آرد (*Ephestia kuehniella* Zeller, 1879) توصیه می-شود، جلوگیری از آلوده شدن آرد در سطوح کوچک، استفاده از مواد شیمیایی مختلف و ضدعفونی انبار می‌باشد که جهت کنترل کافی نمی‌باشد (۲). بید مدیترانه‌ای آرد در ایران و بیشتر مناطق دنیا از آفات انباری مهم و دارای اهمیت اقتصادی می‌باشد که به ویژه در کشورهای گرمسیر بیشترین فعالیت را دارد و اغلب در کارخانه‌های تولید آرد، سیلوهای نگهداری غلات، کارخانه‌های خوراک دام و طیور، نانوایی‌ها و منازل به چشم می‌خورد. بررسی عوامل بیولوژیک و تأثیر نوع غذای مورد استفاده برای پرورش، می‌تواند در بهینه‌سازی پرورش آن حائز اهمیت باشد.

در سال‌های اخیر، به کارگیری روش‌های جدید و کم-خطر برای محیط زیست، انسان و موجودات غیرهدف، بیش از بیش مورد توجه محققان بوده است؛ به ویژه که به دلیل بروز مقاومت آفات به حشره‌کش‌ها، لزوم به کارگیری روش‌های جدید مبارزه با آن‌ها بیشتر احساس می‌شود (۱۰). بدون تردید، شناخت و آگاهی از ویژگی‌های چربی‌های بدن حشرات آفت می‌تواند از طریق بر هم زدن فیزیولوژی عادی، در کنترل آن‌ها موثر باشد (۲). به اثرات یا تغییرات اسیدهای چرب در حشرات و نتایج چند پژوهش جدید و مهم در این زمینه به طور کلی اشاره شود.

در این پژوهش تلاش گردید تا با تعیین میزان اسیدهای چرب فسفولیپیدی و تری‌گلیسریدی موجود در سنین چهارم و پنجم لاروهای شب‌پره مدیترانه‌ای آرد و مقایسه آن‌ها با یکدیگر و همچنین تعیین اسیدهای چرب غالب در هر سن و تاثیر جنسیت بر میزان تغییرات آن‌ها، اثر برخی ویژگی‌های شرایط محیط پرورش و نوع غذای مورد تغذیه حشره مورد آزمون در کمیت و کیفیت اسیدهای چرب مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

پرورش بید مدیترانه‌ای آرد: برای پرورش بید مدیترانه‌ای آرد از کلنی موجود در گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه تبریز استفاده شده و برای پنج نسل متوالی به خالص‌سازی آن بر روی آرد گندم اقدام شد. دمای آزمایشگاه طی دوره پرورش ٦ ± ٢٦ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی برابر ٥ ± ٥٠ درصد و شرایط نوری نیز ١٦ ساعت روشنایی و ٨ ساعت تاریکی بود. برای پرورش حشره از ۰/۲۵ گرم تخم به ازای هر کیلوگرم آرد استفاده شد و تخم‌ها به صورت یکنواخت روی سطح آرد پخش شدند. برای جمع‌آوری حشرات کامل از ظروف پرورش، از دستگاه آسپیراتور استفاده شد. تشخیص لاروهای سنین اول تا پنجم از روی عرض کپسول سر امکان‌پذیر می‌باشد. در آزمایش‌های مربوط به این بررسی، لاروهای سن چهار و پنج بید مدیترانه‌ای آرد مورد استفاده قرار گرفتند که پس از مشاهدات اولیه با بینوکولر و شناسایی این دو سن، به تشخیص لاروهای نر و ماده از طریق مشاهده مستقیم لکه تیره در سطح پشتی شکم لاروهای نر سن پنجم اقدام به تشخیص لاروهای نر و ماده گردید (١٤).

استخراج و تهیه نمونه‌های فسفولیپید و تری-گلیسرید: لاروهای سنین چهارم و پنجم پس از جداسازی با استفاده از پنبه آغشته به اتیل استات به مدت ۵ دقیقه بیهوش شدند. تعداد ۲۰ عدد لارو از هر یک از جنس‌های نر و ماده به ویال‌های شیشه‌ای استریل (به حجم ۵۰ میلی‌لیتر) انتقال داده شدند. کل

بدن لاروها به مدت ۱۵ دقیقه با مخلوط کلروفرم/متانول (به نسبت ۱ به ۲) با استفاده از دستگاه هموژنایزر همگن‌سازی شد. برای به حداقل رسیدن اکسیداسیون اسیدهای چرب همزمان با عمل همگن‌سازی، ۵۰ میکرولیتر بوتیلیت هیدروکسی تولوئن (BHT) ۲ درصد به نمونه‌ها اضافه شد. ویال-های شیشه‌ای حاوی نمونه‌ها در دمای ۲۰- درجه سلسیوس در فریزر نگه‌داری شدند. برای انجام آزمون‌های سنجش فسفولیپید و تری‌گلیسیرید، نمونه-ها از فریزر خارج و به مدت ۳۰ دقیقه در آب قرار گرفتند تا به صورت تدریجی دوباره به حالت مایع در بیایند. پس از مرحله همگن‌سازی، یک میلی‌لیتر از نمونه تهیه شده از کل بافت‌های بدن لاروها با ۳/۷۵ میلی‌لیتر محلول کلروفرم/ متانول به نسبت ۱ به ۲ به خوبی مخلوط شد. سانتریفیوژ نمونه‌ها با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ٤ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه انجام شد. مایع رویی به لوله دیگری منتقل شد و ۱/۲۵ میلی‌لیتر کلروفرم به آن اضافه گردید و عمل مخلوط شدن با استفاده از ورتکس به خوبی انجام گرفت. سپس ۱/۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر به مخلوط به دست آمده اضافه شد و مجدداً عمل مخلوط کردن توسط Vortex به طور کامل انجام شد. محلول حاصل به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰ دور سانتریفیوژ گردید. فاز زیرین که در واقع همان فازی است که محلول حاوی کل چربی استخراج شده می-باشد، از محیط برداشته و ذخیره‌سازی شد.

جداسازی و آنالیز اسیدهای چرب فسفولیپیدی و تری‌گلیسیریدی: جهت استخراج چربی کل طبق دستورالعمل Bligh & Dayer عمل شد (٤). برای انجام این مرحله از تکنیک کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) استفاده شد. ابتدا صفحه TLC به ابعاد ۲۰×۲۰ سانتی‌متر که با سیلیکاژل پوشش داده شده بود به اندازه‌های مساوی ٤ سانتی‌متری تقسیم شد. مقدار اندکی از لیپیدهای تهیه شده، با استفاده از لوله مویینه در نزدیکی لبه (۱/۵ سانتی‌متری) بر روی صفحه TLC گذاشته شد. پس از عمل لکه‌گذاری، صفحه TLC درون تانک TLC حاوی یک حلال مخلوط با ارتفاع کم قرار داده شد. حلال حاوی اسیداستیک/ دی‌اتیل‌اتر/ هگزان به نسبت (۷۰:۳۰:۱) بود. پس از ٦۰ دقیقه، صفحه TLC از تانک خارج و در زیر هود خشک شد. برای اطمینان، صفحه TLC با بلور ید رنگ‌آمیزی شد و محل دقیق فسفولیپید تعیین گردید. جهت تشخیص محل جدا شدن تری‌گلیسیریدها از استاندارد تری‌گلیسرید استفاده شد (١٤). پس از رنگ‌آمیزی صفحات TLC، محل قرارگیری فسفولیپیدها و تری‌گلیسیریدها با استفاده از تیغه شیشه‌ای به داخل لوله‌ای تمیز تراشیده شد. سپس دو میلی‌لیتر از محلول بنزن/ متانول (٤:۱) حاوی استاندارد داخلی به لوله اضافه گردید. به بَنزِن مورد استفاده ۵۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر استاندارد داخلی (۱۳:۰) اضافه شد. در نهایت مقدار ۰/۲ میلی‌لیتر استیل کلراید خالص به آرامی به لوله اضافه شد تا شرایط برای انجام واکنش ترانس استریفیکاسیون مهیا شود. نمونه‌ها به مدت یک ساعت در بن‌ماری جوش، حرارت داده شدند که تولید مخلوطی از استرهای متیل‌آسیل چرب می‌کند. در نهایت برای خنثی‌سازی محیط، ۵ میلی‌لیتر کربنات پتاسیم ٦ درصد به لوله اضافه شد. پس از افزودن کربنات پتاسیم، لوله در دور ۱۰۰۰ به مدت ٤ دقیقه سانتریفیوژ شد و فاز رویی بنزن حاوی لیپیدها توسط پیپت پاستور جدا شد و به داخل ویال‌های شیشه‌ای کوچک انتقال یافت و آماده تزریق به دستگاه GLC گردید. تا زمان تزریق به دستگاه، نمونه‌ها در دمای ۲۰- درجه سلسیوس قرار داده شدند. ۵۰ میکرولیتر از نمونه‌های آماده شده، با استفاده از سوزن همیلتون با سرعت بالا به دستگاه تزریق شد. داده‌های بهدست آمده با نرم‌افزار آماری

SPSS مورد آنالیز قرار گرفتند. مقایسه بین گروه‌ها و نسبت‌ها با آزمون آماری مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

بررسی آماری مقادیر کمی و کیفی پروفایل اسیدهای چرب نمونه‌های آزمایش شده (هم در بخش فسفولیپید و هم در بخش تری‌گلیسرید) نشان داد که در مورد تمام ۱۱ نوع اسید چرب آزمایش شده، بین مقادیر اسید های چرب مختلف سنین چهارم و پنجم لاروی و نیز بین حشرات کامل نر و ماده تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود داشت. اسیدهای چرب فسفولیپیدی شناسایی شده در لاروهای نر و ماده سنین چهارم و پنجم در جدول ۱ ارایه شده‌اند. بیشترین میزان اسید چرب در تمام مربوط به اسید اولئیک

($\Delta^{9,12}$) C۱۸:۰۱ با مقدار میانگین حدود ۴۰ درصد بود. کمترین میزان نیز برای اسید چرب آراشیدیک اسید (۲۰:۰۰) ثبت گردید. در مورد چهار اسید چرب میریستیک اسید (۱۴:۰۰)، استریک اسید (۱۸:۰۰)، گاما لینولئیک اسید (C۱۸:۳) و دکوزا هگزائنوئیک اسید DHE در هر دو جنس نر و ماده، مقدار اسید چرب از سن چهارم به پنجم روندی افزایشی را نشان داد در حالی که در مورد اسید چرب لینولیک اسید (C۱۸:۲) این روند برعکس بود و در هر دو جنس، مقدار این اسید چرب با افزایش سن لاروی کاهش یافت. در مورد دو اسید چرب پالمیتوئیک اسید (C۱۶:۱) و اولئیک اسید (C۱۸:۱) میزان تغییرات در دو جنس برعکس بود و در حالی که مقدار این دو در ماده‌ها با افزایش سن لاروی افزایشی بود اما در نرها با افزایش سن لاروی کاهش نشان داد. این روند در مورد پالمیتیک اسید (۱۶:۰۰)، آراشیدیک اسید (۲۰:۰۰)، آراشیدونات و ایکوزاپنتائنوئیک اسید (EPA) کاملاً برعکس بود و در نرها با افزایش سن لاروی از چهارم به پنجم، مقدار این اسیدهای چرب افزایش و در ماده‌ها کاهش نشان داد (نمودار ۱).

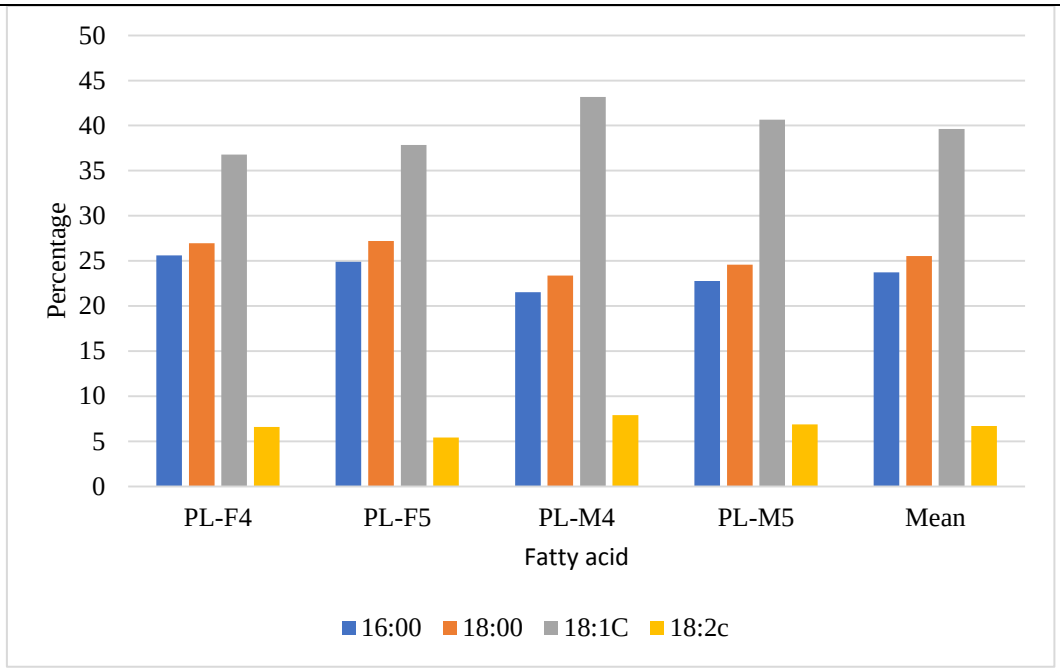
در گروه تری‌گلیسریدی، دو اسید چرب میریستیک اسید (C۱۴:۰۰) و اسید پالمیتیک با مقادیر ۲۶/۸۰ و ۲۳ درصد بالاترین مقدار اسیدهای چرب را به خود اختصاص دادند (جدول ۲ و نمودار ۲) در حالی که اسید چرب DHE با مقدار اندک ۰/۴۶ درصد کمترین اسید چرب بود. از نظر تغییرات، در مقادیر دو اسید چرب پالمیتیک اسید (۱۶:۰۰) و اولئیک اسید (۱۸:۱ C) هم در لاروهای نر و هم ماده با افزایش سن لاروی روند افزایشی معنی‌داری دیده شد در حالی که در مورد شش اسید چرب دیگرروند از نوع کاهشی بود. در دو مورد اسید چرب اتریک اسید (۱۸:۰۰) و لینوئیک اسید (C۱۸:۲) روند تغییرات در نرها و ماده برعکس هم بود به طوری که میزان استریک اسید در ماده‌ها از نرها بیشتر بود و با افزایش سن نیز بیشتر شد اما در مورد لینوئیک اسید میزان این ماده در لاروهای نر با افزایش سن افزایش یافت.

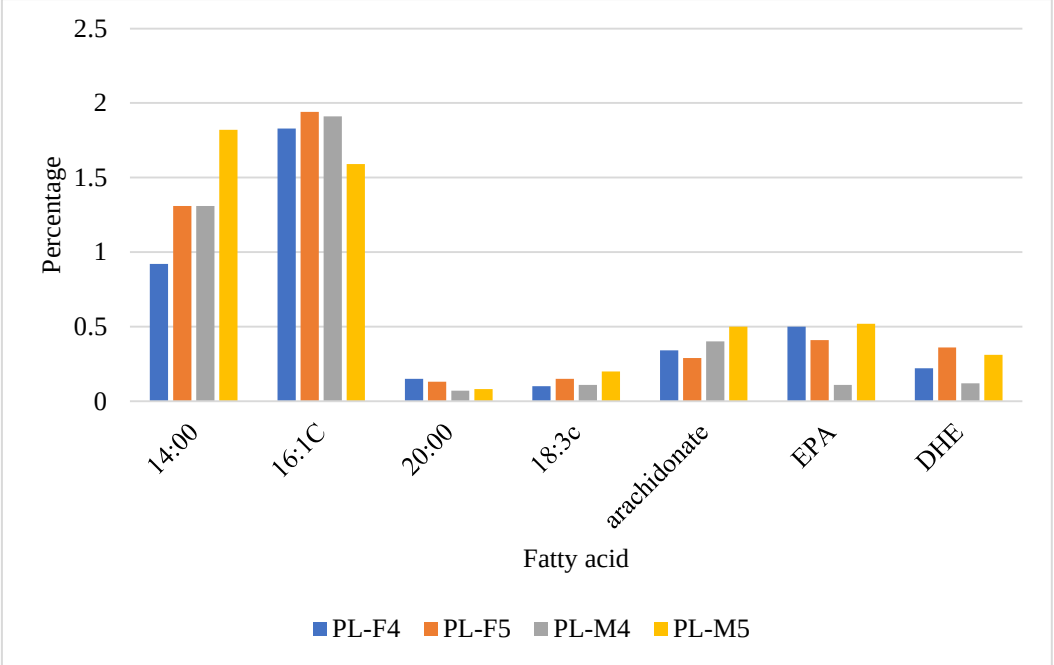
جدول ۱- درصد اسیدهای چرب فسفولیپیدی درلاروهای نر و ماده سنین چهارم و پنجم *E. kuehniella* (میانگین چهار تکرار)

لاروها	۱۴:۰۰	۱۶:۰۰	C۱۶:۱	۱۸:۰۰	C۱۸:۱	C۱۸:۲	۲۰:۰۰	C۱۸:۳	آراشیدونات	EPA	DHE
PL-F4	/۹۲۰	/۶۲۲۵	/۸۳۱	/۹۶۲۶	/۷۷۳۶	/۵۷۶	/۱۵۰	/۱۰۰	/۳۴۰	/۵۰۰	/۲۲۰
PL-F5	۱/۳۱	۲۴/۹۱	۱/۹۴	۲۷/۲۲	۳۷/۸۴	۵/۴۲	۰/۱۳	۰/۱۵	۰/۲۹	۰/۴۱	۰/۳۶
PL-M4	/۳۱۱	/۵۲۲۱	/۹۱۱	/۳۶۲۳	/۱۹۴۳	/۸۹۷	/۰۷۰	/۱۱۰	/۴۰۰	/۱۱۰	/۱۲۰
PL-M5	۱/۸۲	۲۲/۷۸	۱/۵۹	۲۴/۵۸	۴۰/۶۶	۶/۸۸	۰/۰۸	۰/۲۰	۰/۵۰	۰/۵۲	۰/۳۱
Mean	۱/۳۴	۲۳/۷۱	۱/۸۱۹	۲۵/۵۳	۳۹/۶۱	۶/۶۹	۰/۱۱	۰/۱۴	۰/۳۸	۰/۳۸	۰/۲۵

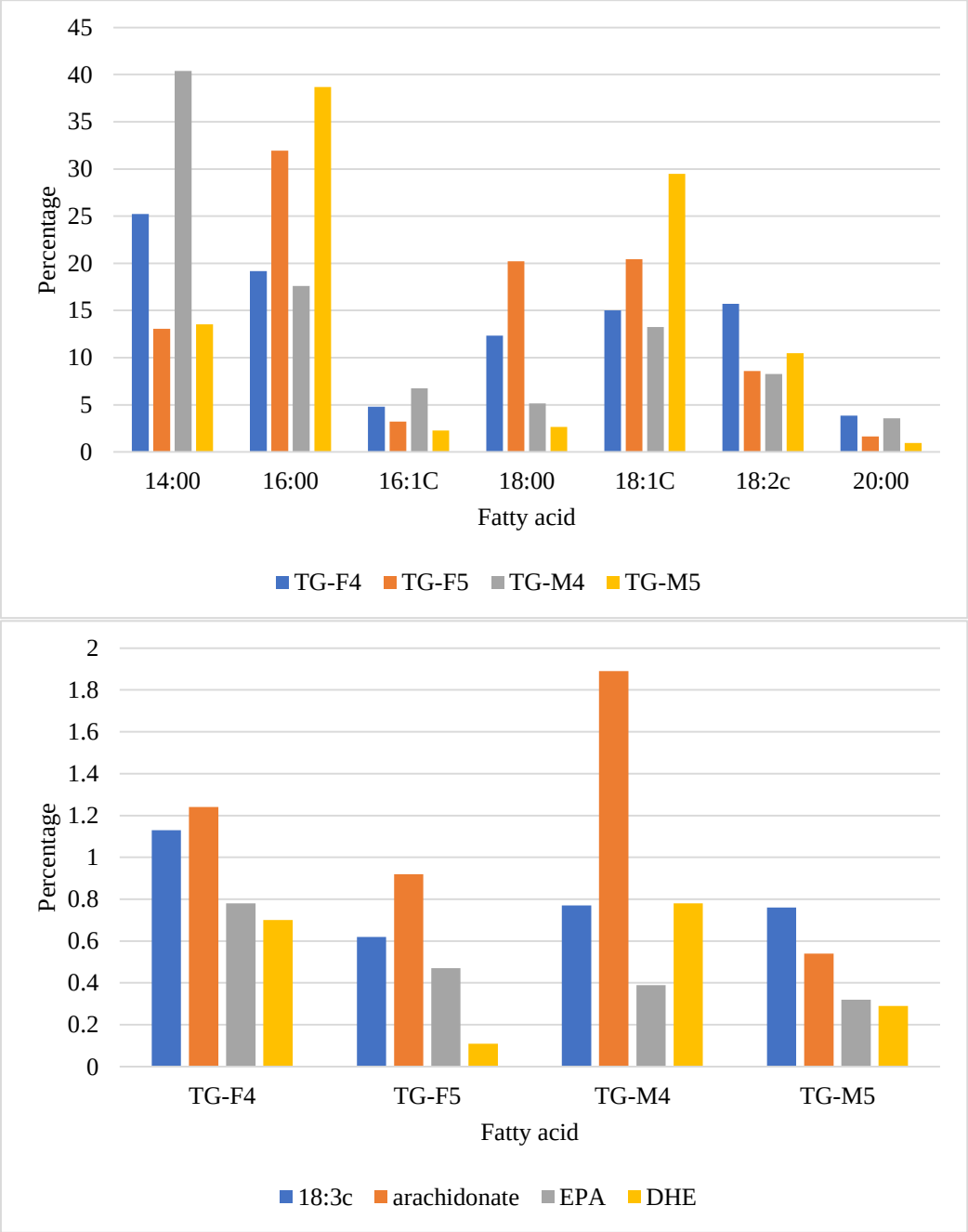
جدول ۲- درصد اسیدهای چرب تری‌گلیسریدها در لاروهای نر و ماده سنین ٤ و ٥ *E. kuehniella* (میانگین چهار تکرار)

لاروها	۱٤:۰۰	۱٦:۰۰	C۱٦:۱	۱۸:۰۰	C۱۸:۱	C۱۸:۲	۲۰:۰۰	C۱۸:۳	آراشیدونات	EPA	DHE
TG-F4	/۲٤۲٥	/۱۸۱۹	/۸۰٤	/۳۳۱۲	/۰۲۱٥	/۷۰۱٥	/۸۷۳	/۱۳۱	/۲٤۱	/۷۸۰	/۷۰۰
TG-F5	۱۳/۰٥	۳۱/۹٤	۳/۲۳	۲۰/۲۳	۲۰/٤۳	۸/٥۹	۱/٦٤	۰/٦۲	۰/۹۲	۰/٤۷	۰/۱۱
TG-M4	/۳۹٤۰	/٦۱۱۷	/۷٦٦	/۱٦٥	/۲٥۱۳	/۲٦۸	/٥۷۳	/۷۷۰	/۸۹۱	/۳۹۰	/۷۸۰
TG-M5	۱۳/٥٤	۳۸/٦۷	۲/۲۸	۲/٦٦	۲۹/٤۹	۱۰/٤٦	۰/۹۷	۰/۷٦	۰/٥٤	۰/۳۲	۰/۲۹
Mean	۲۳/۰٥	۲٦/۸۰	٤/۲۷	۱۰/۰۹	۱۹/٥٤	۱۰/۷٥	۲/٥۱	۰/۸۲	۱/۱٥	۰/٤۹	۰/٤۷





نمودار ۱- میزان تغییرات یازده اسید چرب فسفولیپیدی در لاروهای نر و ماده سنین چهارم و پنجم *E. kuehniella* اسیدهای چرب تری‌گلیسریدی



نمودار ۲- میزان تغییرات یازده اسید چرب گروه تری گلیسیرید در دو سن لاروی ٤ و پنج و در نرها و ماده‌های *Ephestia kuehniella*

بحث

در مطالعه حاضر با توجه به اهمیت لیپیدها در بدن حشرات، اسیدهای چرب فسفولیپیدی و تری-گلیسریدی در لاروهای بید مدیترانه‌ای آرد مورد بررسی قرار گرفتند. اسیدهای چرب اصلی فسفولیپیدها و تری‌گلیسریدها شامل اسیدهای چرب C_{16} و C_{18} اشباع و غیراشباع بودند. طبق تحقیق

صورت گرفته توسط اوگ و همکاران (۱۹۹۳) روی ترکیبات اسیدهای‌چرب، فسفولیپیدها و تری‌آسیل-گلیسریدها در حشرات کامل و لاروهای سوسک‌های *Diabrotica* spp. مشاهده شد که اسیدهای چرب C_{16}و C_{18} اشباع و غیراشباع اجزای اصلی این دو نوع لیپید در این حشره بودند (۱۲). در گروه فسفولیپیدها، اسید اولئیک C۱۸:۰۱ با مقدار ۳۹/۶۱ درصد به عنوان فراوان‌ترین اسید چرب در لاروهای نر و ماده سنین چهارم و پنجم گزارش شد. تغییرات اندکی در مقدار اسیدهای چرب در سنین لاروی و بین دو جنس نر و ماده گزارش شده‌اند.

در بررسی صورت گرفته توسط خانی و همکاران (۲۰۰۷) روی لاروهای کرم سیب *Cydia pomonella* L. در دوره دیاپوزی و پیش‌دیاپوزی، گزارش شد که در دوره پیش‌دیاپوزی، اسید اولئیک با مقدار میانگین حدود ۳۹ درصد فراوان‌ترین اسیدهای چرب بود (۹).

همچنین در مطالعه دیگری توسط چاکماک و همکاران (۲۰۰۷) در زمینه ترکیبات اسیدهای چرب سن شکارگر *Piocoris luridus* و سنک میزبان آن یعنی *Monosteria unicostata* پرورش‌یافته بر روی گیاه *Amygdalus communis*، درصد پایین اسید اولیئک در شکارگر به کمبود این اسید چرب در بادام نسبت داده شد (۵).

حشرات برای ترمیم غشاهای سلولی، حفاظت از سامانه‌های دفاعی و عصبی، سم‌زدایی و غذارسانی به بافت‌ها به اسید اولئیک نیاز دارند. حشرات قادر هستند که این اسید چرب را به میزان کم سنتز کنند، به همین دلیل، مقادیر بیشتر این اسید چرب از رژیم غذایی آن‌ها تأمین می‌شود. بنابراین می‌توان بیان کرد که مقدار این اسید چرب با مقدار اسید اولئیک موجود در رژیم غذایی این حشره مرتبط می‌باشد (۸).

کمترین مقدار اسیدهای چرب فسفولیپیدی به آراشیدیک اسید ($C_{۲۰:۰۰}$) با مقدار میانگین ۰/۱۱ درصد مربوط بود. این اسید چرب در تمامی نمونه‌ها در مقادیر کم دیده شد هر چند مقدار آن در لاروهای ماده بیشتر از نرها اندازه‌گیری شد. آراشیدیک اسید جزء طبیعی غشاهای زیستی و پیش‌ساز تعداد زیادی از ایکوزانوئیدها است و لذا از اهمیت زیادی برخوردار است. طبق تحقیق اوگ و همکاران بر روی پنج گونه مختلف حشره، این اسیدهای چرب غیراشباع هرچند به مقدار ناچیز در بافت‌های همه گونه‌های حشرات موجود می باشد، مقدار اسیدهای چرب و فسفولیپیدها در گونه‌های مورد بررسی اساسا متفاوت بوده و در کل ترکیب اسیدهای چرب در همه‌ی گونه‌ها متفاوت می‌باشد (۱۲).

طبق اظهار نظر دد و همکاران (۱۹۸۷)، مقدار آرشیدیک اسید به میزان زیادی با رژیم غذایی حشرات ارتباط دارد (٦). همچنین، وجود این اسید چرب در لاروهای مگس‌ها ضروری است به طوری که در صورت عدم وجود آن‌ها، حشرات کامل ظاهرشده ضعیف بوده و قادر به پرواز نمی‌باشند. در مورد پنج اسید چرب آراشیدیک اسید C۲۰:۰۰، اولئیک اسید C۱۸:۰۱، استئاریک اسید C۱۸:۰۰، پالمیتیک اسید C۱٦:۰۰ و پالمیتولئیک اسید C۱٦:۰۱ هیچ تفاوت معنی‌داری بین نمونه‌ها دیده نشد.

در مطالعه‌ای روی تغییرات فسفولیپیدها، تری-گلیسریدها و اسیدهای چرب دو گونه *Dolycoris baccarum* و *Piezodorus lituratus* قبل و بعد از مرحله دیاپوز انجام شد، بیشترین ترکیبات شامل پالمییتک اسید، اولئیک اسید، لینولئیک اسید، پالیمتیک، استریک، اسید لینولئیک بودند که نشان‌دهنده یک مکمل معمولی از اسیدهای چرب در ناجوربالان است (۳). در واقع می‌توان بیان کرد که این پنج اسید چرب در لاروهای شب‌پره مدیترانه‌ای آرد یک مکمل

معمولی از اسیدهای چرب است و با یک نسبت تقریباً مشابه در افراد نر و ماده وجود دارند. در گروه فسفولیپیدها، میریستیک اسید (C۱٤:۰۰) و α-لینولئیک اسید (C۱۸:۰۳) در سن پایین‌تر (سن چهارم) به طور میانگین کمتر از سن بالاتر (سن پنجم) مشاهده گردید.

اوورگارد (۲۰۰۵) در بررسی خود روی تغییرات در میزان لیپیدها غشاهای سلولی مگس سرکه *Drosophila melanogaster* Meigen در پاسخ به سرماس ختی، نشان داد که افزایش میریستیک اسید در سنین بالاتر باعث مقاوم شدن آن‌ها در برابر سرما شد. در مطالعات انجام گرفته روی اسیدهای چرب در حشرات، به اسید چرب α-لینولئیک اسید اشاره‌ای نشده است (۱۳). بنابراین می‌توان بیان کرد که احتمالاً این اسید چرب در طول مراحل رشدی در بدن ذخیره می‌شود. طبق نتایج تحقیق حاضر، مقادیر اسیدهای چرب لینولئیک (C۱۸:۰۲)، ایکوزاپنتائنوئیک اسید (EPA) و دوکوزاهگزائنوئیک (DHA) در سنین پایین‌تر از سنین بالاتر بیشتر بود.

مک فارلند اظهار داشته که کمبود اسید لینولئیک در جیره غذایی بالپولکداران باعث می‌شود تا پولک‌ها از کوتیکول شفیرگی جدا نشوند و بال‌ها بدون پولک باشند. بنابراین، در مطالعه حاضر، حضور اسید لینولئیک در لاروهای حشره مورد مطالعه گزارش شد. احتمالاً رقابت بالا بر سر مواد غذایی در سنین بالاتر و همچنین کاهش کیفیت غذا به علت فعالیت زیاد لاروها دلیلی بر روند کاهشی آن می‌باشد (۱۱).

در مطالعه انجام شده توسط آلیزا و همکاران (۲۰۰۱) روی وجود ایکوزاپنتائنوئیک اسید در کرم ابریشم (*Bombyx mori*)، با وجودی که این اسید چرب در حشرات به نسبت بسیار کم (کمتر از ۱ درصد) وجود دارد، در این حشره در حدود ۲۱ درصد مشاهده شد (۱). در مطالعه حاضر، وجود آن هر چند به مقدار کم با میانگینی حدود ۰/۸ درصد در لاروهای بید مدیترانه‌ای آرد گزارش شد. تا کنون مطالعاتی در جهت شناسایی اسید چرب کوزاهگزانوئیک در حشرات انجام نشده است. در مطالعه حاضر با میانگینی حدود ۰/٤ درصد، این اسید چرب در لاروهای نر و ماده وجود داشت. مقدار میستیک اسید، لینولئیک اسید، آراشیدونیک اسید ($C_{۲۰:٤}$)، EPA و DHE در لاروهای نر به طور معنی‌داری از ماده‌ها بیشتر بود. از آن جایی که اسیدهای چرب غیراشباع از جمله EPA و DHE در تنظیم دما و نیز زرادخانه لیپیدی موجود در همولنف لاروها برای بروز واکنش دفاعی در برابر باکتری‌ها اهمیت دارند (۲، ۷)، می‌توان چنین نتیجه گرفت که لاروهای نر نسبت به لاروهای ماده به شرایط نامساعد مقاوم‌تر می‌باشند.

در گروه تری‌گلیسریدی، دو اسید چرب پالمیتیک اسید و میریستیک اسید به ترتیب با مقادیر ۲٦/۸ و ۲۳ درصد بالاترین مقدار اسیدهای چرب را به خود اختصاص دادند. پالمیتیک اسید در موم حشرات وجود دارد (۸). درصد بالای آن در نمونه‌ها نشان می‌دهد که لاروهای مورد آزمایش دارای غشای سلولی هستند که نسبت به آب نفوذناپذیر است. در بین اسیدهای چرب مختلف، مقادیر پنج اسید چرب میریستیک اسید، پالمیتولئیک اسید، آراشیدیک اسید، آرشیدونیک اسید و DHE در سنین چهارم بیشتر از سن پنجم بود.

در بررسی انجام شده روی اسیدهای چرب غیراشباع و فعالیت آنزیم فسفولیپاز $A_۲$ در (Coquerel, 1858) *Cochilomyia hominivorax* حضور آرشیدونیک اسید در بافت‌های لاروها و حشرات کامل گزارش شد. این محققان اظهار داشته‌اند که این اسید چرب در طول مراحل لاروی انباشته می‌شود و نسبت آن در حشرات کامل بیشتر است (۱). آنزیم فسفولیپاز $A_۲$ در روده میانی مسئول هیدرولیز چربی‌ها و آزاد کردن

اسیدهای چرب ضروری از جمله آراشیدونیک اسید می‌باشد. این اسید چرب احتمالاً از رژیم غذایی به دست می‌آید. بنابراین، فعالیت اندک آنزیم فسفولیپاز A_2 در روده میانی می‌تواند علت وجود مقادیر پایین این اسید چرب در لاروهای شب‌پره مدیترانه‌ای آرد باشد.

در مطالعه دیگری در زمینه ترکیبات اسیدهای چرب فسفولیپیدی و تری‌گلیسریدیدر مراحل تخم، پوره‌های سنین هفتم، هشتم و آخر، و حشرات کامل ماده *Melanogryllus desertus* (Pallas, 1771) انجام شد، در سنین بالاتر مقدار کمی پالمیتولئیک اسید، میریستیک اسید و لینولئیک اسید یافت شد (۸). همچنین، در سطوح اسیدهای چرب در مراحل مختلف رشدی حشره نوسان‌هایی وجود داشت. در واقع این روند کاهشی در این اسیدهای چرب می‌تواند با توجه به فیزیولوژی حشره، شرایط محیطی و رژیم غذایی متغیر باشد. اسیدهای چرب دیگر در گروه تری‌گلیسریدها عبارت از اولئیک اسید و پالمیتیک اسید می‌باشند که در تحقیق حاضر در لاروها یک روند افزایشی رانشان دادند و در سن پایین‌تر مقدار آن‌ها کمتر از سن بالاتر بود.

باتالها و همکاران (۲۰۲۰) با مطالعه اثر تغییرات فصلی بر ترکیبات فسفولیپیدی ماهیچه‌های قفس‌سینه سن *Pyrrhocoris apterus* گزارش کردند که با وارد شدن به مرحله دیاپوزی، میزان اسید اولئیک از ۳۰ به ٤٧ درصد افزایش پیدا کرد. همچنین، بیان کردند که اسید اولئیک نه تنها باعث افزایش سیالیت غشا در دمای پایین می‌شود بلکه حالت مایع کریستالی را برای غشاهای سلولی در دماهای بالا نیز امکان‌پذیر می‌سازد (٤). بنابراین می‌توان گفت که این اسید چرب برای حفظ تعادل فیزیولوژیک حشره مورد نیاز است و با پوست‌اندازی مقدار اسید اولئیک افزایش می‌یابد. مقدار دو اسید چرب استئاریک اسید و ایکوزاپنتائنوئیک اسید در ماده‌ها به مراتب و به‌طور معنی‌داری بیشتر از نرها بود. از آن‌جایی که اسیدهای چرب غیراشباع ایکوزانوئیدها برای تخمگذاری و تولیدمثل تمام حشرات ضروری هستند، این امر می‌تواند دلیلی بر مقدار بیشتر آن‌ها در ماده‌ها باشد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان چنین بیان کرد که در حشرات مختلف با توجه به گونه حشره، فیزیولوژی حشره جنسیت، شرایط محیطی و رژیم غذایی حشرات، نوع اسیدهای چرب و هم میزان آنها دچار تغییر می‌شود. از طرفی با توجه به اینکه سموم آفت‌کش شیمیایی اساساً براساس اختلال در سنتز برخی مولکولی زیستی بخصوص اسیدهای چرب طراحی می‌شوند، لذا می‌توان با اطلاع از نتایج این گونه تحقیقات، سمومی کارا تر با طیف اثر محدود و کنترل شده طراحی و به بازار عرضه کرد.

منابع

1. Aliza A.R.N., Bedick J.C., Rana R.L., Tunaz H., Hoback W.W., Stanley D.W. 2001. Arachidonic and eicosapentaenoic acids in tissues of firefly, *Photinus pyralis* (Insecta: Coleoptera). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 128:251-257.

2. Bandani A.R. 2010. Insect Physiology. University of Tehran Press. 1st edition. 457 Pp

3. Bashan M., Akbas H, Yurdakoc K. 2002. Phospholipid and triacylglycerol fatty acid composition of major life stages of sunn, *Eurygaster integriceps* (Heteroptera: Scutelleridae). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 132:375-380.

4. Batalha M.D.M., Goulart H.F., Santana A.E., Barbosa L.A., Nascimento T.G., da Silva M.K., Grillo L.A. 2020. Chemical composition and antimicrobial activity of cuticular and internal lipids of

enemies a critical review of laboratory studies. *The Netherlands Entomological Society Entomologia Exprimentalis et Applicata,* 114:1-14.

11. McFarlane J.E. 2019. Lipid factors in insect growth and reproduction. In *Metabolic Aspects of Lipid Nutrition in Insects* (pp. 149-157). CRC Press.

12. Ogg C.L., Meinke L.J., Howard R.W., Stanley-Samuelson D.W. 1993. Phospholipid and triacylglycerol fatty acid compositions of five species of *Diabrotica* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Comparative Biochemistry and physiology,* 105:66-77.

13. Overgaard J., Sorensen J.G., Petersen S.O., Loeschcke V., Holmstrup M. 2005. Changes in membrane lipid composition following rapid cold hardening in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Insect Physiology,* 51:1173-1182.

14. Riudavets J., Castañé C., Agustí N., Del Arco L., Diaz I., Castellari M. 2020. Development and biomass composition of *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae), *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), and *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) reared on different byproducts of the agri-food industry. *Journal of Insect Science*, 20:17-23

the insect *Rhynchophorus palmarum*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology,* 105: e21723.

5. Cakmak O., Bashan M., Bolu H. 2007. The fatty acids compositions of *Piocoris luridus* (Heteropera: Lygaeidae) and its host, *Monosteria unicostata* (Heteroptera:Tingidae) reared on almond. *Journal of Insect Science,* 14:461-466.

6. Dadd R.H., Kleinjan J.E., Stanley-Salmuelson D.W. 1987. Polyunsaturated fatty acids of mosquitos reared with single dietary polyunsaturates. *Insect Biochemistry,* 17:7-16.

7. Gilbert L.I., Haruo Chino H. 1974. Transport of lipids in insects. *Department of Biological Sciences,* 15:439-56.

8. Kaczmarek A., Boguś M. 2021. The metabolism and role of free fatty acids in key physiological processes in insects of medical, veterinary and forensic importance. *PeerJ,* 9:e12563.

9. Khani A., Moharramipour S., Barzegar M., NaderiManesh H. 2007. Comparison of fatty acid composition in total lipid of diapauses and non-diapause larvae of *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae). *Journal of Insect Science,* 14:125-131.

10. Lovei G.L., Arpaia S. 2005. The impact of transgenic plants on natural

An Investigation on Phospholipid and Triglyceride Fatty Acids of Mediterranean Flour Moth, *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae)

Mohaddeseh Zarrinkolah, Reza Farshbaf Pourabad*, Reza Khakvar*

Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

Abstract

The Mediterranean flour moth (*Ephestia kuehniella*) is an important storage pest that can cause significant losses in flour factories. The current study was conducted in order to study the quantity and quality of different phospholipids and triglycerides fatty acids in the body of the 4th and 5th instar of *E. kuehniella*. According to the results, among the fatty acids in the phospholipids group, the highest amount of fatty acid in all tested samples was related to Oleic acid (18:01) with an average value of about 40%. This fatty acid had the highest amount in both 4th and 5th instar as well as both male and female larvae. The lowest amount in this group was Arachidic acid (20:00) with an average value of 0.11%. This fatty acid was seen in small amounts in all samples, although its amount was significantly higher in females than in males. In the triglyceride group, two fatty acids Myristic acid (14:00C) and Palmitic acid (16:00C) accounted for the highest amounts with values of 23% and 26.8% respectively, while Docosahexaenoic acid (DHA) was recorded as the lowest fatty acid with a small amount of 0.46%. In comparison of male and female samples, the biggest difference in the amount of fatty acids was recorded in the two fatty acids DHE from the phospholipid group and stearic acid (18:00) from the triglyceride group, which were measured 5 and 2.2 times more in females than in males, respectively. The biggest changes between the 4th and 5th instars in the phospholipid group were related to linolenic acid (18:3C) and DHE, which showed a 50% increase from 4th to 5^{th} instar, and the most changes in the triglyceride group was related to myristic acid (14:00) and DHE, which showed a several-fold decrease from the age from 4th to 5^{th} instar.

Keywords: Phospholipid, Triglyceride, *Ephestia kuehniella*, Flour, Larval ages.