

مقاله کوتاه علمی

فعالیت آمیلولیتیک و پروتئولیتیک گوارشی *Brevicoryne brassicae* روی ارقام مختلف کلزا (Hem.: Aphididae)

بهرام ناصری*، جبرائیل رزمجو، قدیر نوری قنبلانی، عاطفه مرتضوی ملک‌شاه، احسان برزویی و شروین برزین

گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده‌ی کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: bnaseri@uma.ac.ir

Digestive amylolytic and proteolytic activities of *Brevicoryne brassicae* (Hem.: Aphididae) on different canola cultivars

Bahram Naseri*, Jabraeil Razmjou, Gadir Nouri-Ganbalani, Atefeh Mortazavi Malekshah, Ehsan Borzouei & Shervin Barzin

Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

* Corresponding author, E-mail: bnaseri@uma.ac.ir

Abstract

Brevicoryne brassicae (L.) is one of the most damaging pests of canola in Iran. Digestive amylolytic and proteolytic activities of adult aphids were evaluated on eight canola cultivars (Opera, SLM₀₄₆, RGS₀₀₀, Okapi, Delgan, Licord, H19, and Modena) using starch and azocasein substrates, respectively. The experiment was conducted at $25 \pm 1^\circ\text{C}$, $65 \pm 5\%$ RH and a 16:8 h (L:D) photoperiod. Amylolytic activity was the lowest on Licord and highest on SLM₀₄₆. The lowest proteolytic activity was on Okapi and Opera, and highest activity was on Delgan. The results indicated that canola cultivars influence on digestive physiology of this aphid.

Key words: cabbage aphid, digestive enzyme, plant cultivars

Received: 2 December 2018, Accepted: 13 December 2019

شته‌ی مومی کلم *Brevicoryne brassicae* L. یکی از آفات مهم گیاهان تیره‌ی چلیپانیان به ویژه کلزا است که با تغذیه از شیرهای گیاهی اندام‌های هوایی گیاه میزبان، موجب کاهش عملکرد محصول می‌شود (Blackman & Eastop, 2000). با توجه به اینکه یکی از مهمترین اثرات ترکیبات شیمیایی ثانوی موجود در گیاهان روی آنزیم‌های گوارشی حشرات می‌باشد، بر این اساس بررسی آنزیم‌های گوارشی حشرات به ویژه آنزیم‌های آمیلاز و پروتئاز به منظور طراحی دقیق رهیافت‌های کنترلی مناسب به منظور استفاده‌ی موفقیت آمیز از مهارکننده‌های آنزیمی در مدیریت آفات ضروری است (Michaud, 1997). علی‌رغم اینکه ویژگی‌های زیستی و جدول زندگی شته مومی کلم روی ارقام مختلف کلزا توسط پژوهشگران متعددی بررسی شده است (Mirmohammadi et al., 2009; Mousavi Anzabi et al., 2014; Karami et al., 2018)، بر اساس جستجو در منابع علمی در دسترس، تاکنون هیچ تحقیقی درباره‌ی تاثیر ارقام گیاهی مختلف (از جمله کلزا) بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی پروتئاز و آمیلاز شته

مومی کلم صورت نگرفته بود. بنابراین پژوهش حاضر اولین مطالعه‌ای است که فیزیولوژی گوارشی این شته را روی ارقام مختلف کلزا مورد بررسی قرار داده است. با این حال، تحقیقاتی روی فیزیولوژی گوارشی سایر گونه‌های شته‌ها انجام شده است. به عنوان مثال، فعالیت چند آنزیم کربوهیدرازی و پروتئازی در معده میانی شته نخود *Acyrtosiphon pisum* (Harris) توسط Cristofolletti et al. (2003) بررسی شد. نتایج آنها نشان داد که این شته دارای پروتئاز فعال است که می‌تواند سوبسترای پروتئینی را تجزیه کند. حضور پروتئازهای فعال در معده پوره و حشرات کامل شته *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) توسط Azzouz et al. (2005) گزارش شد. برای اولین بار فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز شته رز *Macrosiphum rosae* L. با استفاده از سوبسترای نشاسته یک درصد توسط Darvishzadeh & Bandani (2012) شناسایی و میزان فعالیت این آنزیم ۱/۵۹ U گزارش شد. همچنین، ویژگی‌های بیوشیمیایی آنزیم آلفا-آمیلاز در شته باقلا *Aphis fabae* Scopoli و شته جالیز *Aphis gossypii* Glover توسط Darvishzadeh et al. (2014) بررسی شد. طبق گزارش این پژوهشگران، میزان فعالیت آنزیم در شته باقلا ۱/۲۴۶ U/ml و در شته جالیز ۱/۲۲۵ U/ml می‌باشد.

پرورش شته مومی کلم روی برگ‌های گیاه کلم بروکلی در شرایط آزمایشگاهی (دمای 25 ± 1 سلسیوس، رطوبت نسبی 65 ± 5 درصد و دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) انجام شد. بذور ۸ رقم کلزای مورد مطالعه شامل Opera, SLM046, RGS000, Okapi, Delgan, Licord, H19 و Modena از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شدند. علت انتخاب این ارقام بر اساس تجاری بودن آنها و همچنین میزان مقاومت و حساسیت آنها به شته مومی کلم و سایر آفات کلزا بود. ارقام نامبرده در گلدان‌هایی به ابعاد 25×15 سانتی‌متر کشت شدند. بعد از اینکه گیاهچه‌ها به مرحله شش برگی رسیدند، شته‌ها روی برگ‌های هر رقم کلزا توسط قفس برگی گیره‌ای (60×10 میلی‌متر) محصور شدند (به ازای هر قفس یک عدد شته). پس از تغذیه شته از ارقام مختلف کلزا، تعداد ۱۰۰ عدد شته‌ی بالغ به طور تصادفی انتخاب و در حجم ۵۰۰ میکرولیتر از آب مقطر در میکروتیوب جمع‌آوری شدند. سپس با استفاده از یک هموژنایزر شیشه‌ای دستی در روی یخ همگن شدند. مخلوط‌های همگن حاصل در دمای ۴ درجه‌ی سلسیوس با سرعت $15000 \times g$ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند و رونشین‌های حاصل برای انجام آزمایش‌ها مورد استفاده قرار گرفتند. فعالیت آمیلولیتیک شته روی ارقام مختلف کلزا بر اساس روش Bernfeld (1955) با استفاده از سوبسترای نشاسته یک درصد بررسی شد. برای سنجش فعالیت پروتئازی کل، از سوبسترای پروتئینی آزوکازئین ۱/۵ درصد استفاده شد (Elpidina et al., 2001). در تجزیه آماری داده‌های به دست آمده از تأثیر ارقام مختلف کلزا روی فعالیت آنزیم‌های گوارشی شته از روش تجزیه واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) با نرم افزار آماری MINITAB 16.0 استفاده شد. اختلافات آماری میلانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد مورد بررسی قرار گرفت.

فعالیت آمیلولیتیک شته‌های تغذیه شده روی ارقام مختلف کلزا تفاوت معنی‌داری نشان دادند (جدول ۱؛ $F = 10.02$; $df = 7, 16$; $P < 0.05$). کمترین و بیشترین فعالیت آمیلولیتیک به ترتیب مربوط به شته‌های تغذیه شده از رقم‌های Licord (0.22 ± 0.01 mU/individual) و SLM046 (0.49 ± 0.05 mU/individual) بود. تغییر در فعالیت ویژه آنزیم‌های گوارشی مربوط به حشرات پرورش یافته روی غذاهای مختلف ممکن است تا حدی پاسخ به تفاوت در غذای هضم شده توسط حشره باشد (Nation, 2001). میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی حشرات به مواد مغذی موجود در غذا، ترکیبات شیمیایی موجود در مواد غذایی و بازدارنده‌های فعالیت آنزیمی بستگی دارد (Mendiola-Olaya et al., 2000). میزان فعالیت آنزیم آمیلاز شته مومی کلم روی ارقام کلزای مورد آزمایش در تحقیق حاضر با مقادیر گزارش شده برای شته رز *M. rosae* (Darvishzadeh & Bandani, 2012) و گونه‌های *A. fabae* و *A. gossypii* (Darvishzadeh et al., 2014) متفاوت می‌باشد. علت این امر می‌تواند به متفاوت بودن

گونه‌ی شته، گیاهان میزبان مورد آزمایش و روش سنجش آنزیمی مربوط باشد. بر اساس گزارش Karami *et al.* (2018)، در بین ارقام کلزای مورد آزمایش، دو رقم RGS و Okapi مقاوم‌ترین ارقام نسبت به تغذیه و افزایش جمعیت شته مومی کلم می‌باشند. مقایسه‌ی نتیجه گزارش شده توسط محققان فوق با نتایج حاصل از فعالیت آمیلازی شته در تحقیق حاضر نشان می‌دهد که شته‌های تغذیه شده روی این دو رقم (Okapi و RGS) در گروه با کمترین فعالیت آمیلازی قرار دارند و با شته‌های پرورش یافته روی رقم Licord که کمترین فعالیت آمیلازی را دارد تفاوت معنی‌داری ندارند.

جدول ۱- میانگین (\pm خطای معیار) فعالیت آمیلولیتیک (تکرار=۳) و پروتئولیتیک (تکرار=۳) عصاره‌ی *Brevicoryne brassicae* روی ارقام مختلف کلزا

Table 1. Mean (\pm SE) amylolytic ($n=3$) and proteolytic ($n=3$) activities of extract from *Brevicoryne brassicae* fed on different canola cultivars

Cultivar	Amylolytic activity (mU/individual)	Proteolytic activity (OD/individual)
Licord	0.022 \pm 0.001c	0.0109 \pm 0.0002bc
Delgan	0.032 \pm 0.001bc	0.0255 \pm 0.0005a
Opera	0.027 \pm 0.001bc	0.0070 \pm 0.0010e
RGS ₀₀₀	0.030 \pm 0.001bc	0.0101 \pm 0.0002bcd
SLM ₀₄₆	0.049 \pm 0.005a	0.0128 \pm 0.0009b
H19	0.035 \pm 0.002b	0.0088 \pm 0.0007cde
Okapi	0.027 \pm 0.001bc	0.0074 \pm 0.0002e
Modena	0.029 \pm 0.003bc	0.0105 \pm 0.0001bc

حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده‌ی وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها می‌باشند (توکی، $P < 0.05$).

The means followed by different letters in each column are significantly different (Tukey, $P < 0.05$).

فعالیت پروتئولیتیک کل عصاره‌ی آنزیمی شته مومی کلم پرورش یافته روی ارقام مختلف کلزا تفاوت معنی‌داری را نشان دادند (جدول ۱؛ $F=96.53$; $df = 7, 16$; $P < 0.05$)؛ کمترین فعالیت پروتئولیتیک مربوط به شته‌های تغذیه شده روی ارقام Opera (0.007 ± 0.001 OD/individual) و Okapi (0.0074 ± 0.0002 OD/individual) و بیشترین فعالیت مربوط به رقم Delgan (0.0255 ± 0.0005 OD/individual) بود. وجود تفاوت‌های ذاتی در بین میزبان‌های گیاهی از جمله ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی گیاه میزبان و فاکتورهای فیزیولوژیکی بدن حشرات، توانایی حشرات را برای تغذیه از میزبان‌های مختلف گیاهی تحت تاثیر قرار می‌دهند (Foss & Rieske, 2003). کمتر بودن فعالیت پروتئولیتیک شته مومی کلم روی رقم Okapi می‌تواند به دلیل پایین بودن کیفیت فیزیکی و بیوشیمیایی درشت مغذی‌ها، به‌خصوص پروتئین موجود در این رقم باشد که نیازمند انجام پژوهش‌هایی در آینده به منظور اثبات این ادعا می‌باشد. با این حال، نتیجه به دست آمده درباره نامطلوب بودن رقم Okapi برای تغذیه شته مومی کلم در تحقیق حاضر همسو با یافته‌های Karami *et al.* (2018) می‌باشد. این پژوهشگران نشان دادند که کمترین نرخ ذاتی افزایش جمعیت این شته روی رقم Okapi می‌باشد و بر این اساس این رقم را به عنوان نامناسب‌ترین رقم کلزا برای تغذیه و رشد جمعیت شته مومی کلم معرفی کردند. نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان داد که ارقام کلزا (به عنوان یکی از میزبان‌های اصلی شته مومی کلم) می‌توانند تاثیر معنی‌داری روی فیزیولوژی آنزیم‌های گوارشی شته مومی کلم داشته باشند.

References

- Azzouz, H., Cherqui, A., Campan, E.D.M., Rahbe, Y., Duport, G., Jouanin, L., Kaiser, L. & Giordanengo, P. (2005) Effects of plant protease inhibitors ,oryzacystatin I and soybean Bowman-Birk inhibitor, on the aphid *Macrosiphum euphorbiae* (Homoptera,

- Aphididae) and its parasitoid *Aphelinus abdominalis* (Hymenoptera, Aphelinidae). *Journal of Insect Physiology* 51, 75–86.
- Bernfeld P.** (1955) Amylases α and β . *Methods in Enzymology* 1, 149-154.
- Blackman, R. L. & Eastop, V.F.** (2000) *Aphids on the World's Crops*. John Wiley & Sons. New York.
- Cristofolletti, P.T., Ribeiro, A.F., Deraison, C., Rahbe, Y. & Terra, W.R.** (2003) Midgut adaptation and digestive enzyme distribution in a phloem feeding insect, the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*. *Journal of Insect Physiology* 49, 11–24.
- Darvishzadeh, A. & Bandani, A.R.** (2012) Identification and characterization of alpha amylase in the rose aphid, *Macrosiphum rosae* L. (Hemiptera: Aphididae). *Munis Entomology & Zoology* 7, 1089-1096.
- Darvishzadeh, A., Bandani, A.R. & Mousavi, S.G.** (2014) Biochemical characterization of α -amylase in two aphid species, *Aphis fabae* Scopoli (Hemiptera: Aphididae) and *A. gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae). *Plant Protection Science* 2, 84-89.
- Elpidina, E.N., Vinokurov, K.S., Gromenko, V.A., Rudenshaya, Y.A., Dunaevsky, Y.E. & Zhuzhikov, D.P.** (2001) Compartmentalization of proteinases and amylases in *Nauchoeta cinerea* midgut. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 48, 206-216.
- Foss, L.K. & Rieske, L.K.** (2003) Species-specific differences in oak foliage affect preference and performance of gypsy moth caterpillar. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 108, 87-93.
- Karami, A., Fathipour, Y., Talebi, A.A. & Reddy G.V.P.** (2018) Canola quality affects second (*Brevicoryne brassicae*) and third (*Diaeretiella rapae*) trophic levels. *Arthropod-Plant Interactions* 12, 291–301.
- Michaud, D.** (1997) Avoiding protease-mediated resistance in herbivorous pests. *Trends in Biotechnology* 15, 4-6.
- Nation, J.L.** (2001) *Insect physiology and biochemistry*. Boca Raton, Fla., CRC Press.
- Mendiola-Olaya, E., Valencia-Jimenez, A., Valdes-Rodriguez, S., Delano-Frier, J. & Blanco-Labra, A.** (2000) Digestive amylase from the larger grain borer, *Prostephanus truncates* Horn. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B* 126, 425-433.
- Mousavi Anzabi, S.H., Eivazi, A., Zargaran, M.R. & Gasemi-Kahrizeh, A.** (2014) Effect of seven canola genotypes on cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae*) growth parameters. *Romanian Agricultural Research* No. 31.
- Mirmohammadi, S.H., Allahyari, H., Nematollahi, M.R. & Saboori, A.R.** (2009) Effect of host plant on biology and life table parameters of *Brevicoryne brassicae* (Hemiptera: Aphididae). *Annals of the Entomological Society of America* 102, 450-455.