

مقاله پژوهشی

تأثیر کاربرد مقادیر مختلف نیتروژن در ارقام کلزا *Brassica napus* روی عکس‌العمل تغذیه و متابولیسم پروتئینکرم قوزه پنبه *Helicoverpa armigera*سید مظفر منصور^۱، ناهید مهنی^۱، محسن مهرپور^۱، محمدرضا لشکری^۱، بهرام ناصری^۲

۱- گروه زیستی، پژوهشکده علوم محیطی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران؛ ۲- استاد گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
(تاریخ دریافت: مهر ۱۳۹۹؛ تاریخ پذیرش: فروردین ۱۴۰۰)

چکیده

عکس‌العمل فیزیولوژیک تغذیه کرم قوزه پنبه از طریق ارزیابی شاخص‌های تغذیه‌ای و فعالیت آنزیمی لاروهای پرورش یافته روی ارقام مختلف گیاه کلزا بررسی شد. در این پژوهش از سه رقم کلزا شامل، Sarigol، Rgs003 و SIm046، استفاده شد. گیاهان مورد آزمایش تحت سه تیمار کود اوره (معادل ۱۲۰، ۲۴۰ و ۳۶۰ کیلوگرم در هکتار) در سه مرحله در طول دوران رویشی قرار گرفتند. شاخص‌های تغذیه‌ای کرم قوزه پنبه روی ارقام مختلف کلزا با استفاده از فرمول‌های ارائه شده توسط والدبائور محاسبه شدند. بر اساس نتایج به‌دست آمده، میزان پروتئین کل برگ در سه رقم کلزا با افزایش مقدار ازت مصرفی، به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. نتایج نشان داد که در کلیه شاخص‌های تغذیه‌ای محاسبه شده کمترین و بیشترین مقدار به‌ترتیب در لاروهای پرورش یافته روی برگ گیاهان شاهد و گیاهان تیمار شده با ۳۶۰ کیلوگرم در هکتار کود ازته بود و تفاوت معنی‌داری بین شاخص‌های مذکور بین لاروهای تغذیه‌شده با تیمارهای ۱۲۰ و ۲۴۰ کیلوگرم در هکتار کود ازته وجود نداشت. مشابه این نتایج در مورد میزان فعالیت پروتئیناز گوارشی لارو کرم قوزه پنبه نیز صادق بود.
واژه‌های کلیدی: ازت، شاخص‌های تغذیه‌ای، فعالیت آنزیمی، کرم قوزه پنبه

The effect of different amounts of nitrogen applied on rapeseed cultivars on nutrient reaction and protein metabolism of *Helicoverpa armigera*

S. M. MANSOURI¹, N. MEHNI¹, M. MEHRPARVAR¹, M. LASHKARI¹, B. NASERI²

1. Department of Biodiversity, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran; 2. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture and natural Resources, Mohaghegh Ardabili University, Ardabil, Iran

Abstract

The physiological feeding reactions of cotton bollworm were investigated by evaluation of nutritional indices and enzyme activity of larvae reared on different rapeseed cultivars including, Sarigol, Rgs003 and SIm046. The experimental plants were treated by amounts of urea fertilizer equivalent to 120, 240 and 360 kg per hectare, in three development stages of plants. The nutritional indices of *Helicoverpa armigera* on different rapeseed cultivars were calculated by Waldbauer's formula. The total leaf protein in three rapeseed cultivars were significantly increased with increase of nitrogen level. The lowest and highest values of measured nutritional indices were observed in larvae reared on control and treated plants with 360 kg/hectare of nitrogen, respectively. Also results indicated that there was not significant difference between larval nutritional indices which reared on plants treated with 120 and 240 (kg/hectare). Similar results were obtained for larval digestive enzyme activity.

Keywords: Cotton bollworm, enzyme activity, Nitrogen, nutritional indices

مقدمه

دانه‌های روغنی پس از غلات دومین ذخایر غذایی جهان را تشکیل می‌دهند و نقش مهمی در حفظ سلامت جامعه دارند (Omidi *et al.*, 2010). بررسی‌ها نشان داده است که نیتروژن و فسفر از عناصر ضروری در رشد اکثر گیاهان از جمله کلزا می‌باشند (Fernandez *et al.*, 2007, Malakouti, 2006, Salardini, 2005). بنابراین بهینه سازی این مواد می‌تواند تولید دانه و درصد روغن کلزا را به طور قابل توجهی افزایش دهد (Fernandez *et al.*, 2007). نیتروژن یکی از مهمترین عناصر غذایی و عامل محدود کننده رشد گیاهان است و نقش بسیار مهمی در تغذیه گیاهان دارد (Malakouti, 2006). نیتروژن جزء اصلی پروتئین‌ها در گیاه بوده و گیاهان برای رشد طبیعی به مقدار کافی نیتروژن نیاز دارند (Salardini, 2005). نیتروژن عمدتاً اولین عنصر غذایی است که در مناطق خشک و نیمه خشک کمبود آن مطرح می‌شود زیرا مقدار مواد آلی که عمده ترین منبع ذخیره نیتروژن محسوب می‌شوند در این مناطق ناچیز است (Saffari *et al.*, 2010). رشد رویشی و زایشی کلزا نیز مانند سایر گیاهان زراعی به نیتروژن نسبت به سایر مواد غذایی نیازمندتر است. البته کاربرد بیش از حد نیتروژن ممکن است موجب آلودگی آبهای سطحی و زیرزمینی شده و سلامت انسان‌ها و حیوانات را نیز به مخاطره اندازد (Nazari & Falah, 2015).

نوع گیاه میزبان روی مراحل مختلف زیستی در حشرات از جمله رشد و نمو مراحل قبل از بلوغ، بقاء، تولید مثل و پارامترهای رشد جمعیت اثر می‌گذارد (Tsai & Wang, 2001; Kim & Lee, 2004). برخی از خصوصیات گیاه میزبان در تغذیه، تولید مثل و نشو و نمای حشره آفت نقش تعیین کننده ای ایفا می‌کند (Rafiq, 2008). در حشرات با دامنه‌ی میزبانی وسیع، در دسترس بودن گیاهان میزبان متعدد و همچنین کیفیت و کمیت غذای خورده شده نقش مهمی در رشد و نمو، تولید مثل و افزایش جمعیت نسل بعد حشره

ایفا می‌کند (Valensia-Jimenes, 2007). مطالعه‌ی شاخص‌های تغذیه‌ای، ابزاری مفید برای درک فیزیولوژی تغذیه و اکولوژی حشرات است (Scriber & Slansky, 1981). در بین شاخص‌های تغذیه‌ای، شاخص بازدهی تبدیل غذای بلعیده شده نشان‌دهنده‌ی توانایی یک حشره برای استفاده از غذای مورد نیاز جهت رشد و نمو بوده و همچنین شاخص بازدهی تبدیل غذای هضم شده شاخصی است که افزایش یا کاهش عمومی نسبتی از هضم غذای متابولیزه شده را برای تولید انرژی نشان می‌دهد (Nathan *et al.*, 2005). در مطالعات مختلف تعیین شاخص‌های تغذیه‌ای حشرات، مشخص شده که این شاخص‌ها روی میزبان‌های مختلف گیاهی و حتی بین ارقام مختلف یک گونه گیاهی نیز متفاوت بوده است. مطالعات مختلفی جهت ارزیابی شاخص تغذیه‌ای کرم قوزله پنبه، *Helicoverpa armigera* روی میزبان‌های مختلف این حشره صورت گرفته است (Nasari *et al.*, 2010; Hemati *et al.*, 2012; Bagheri *et al.*, 2013; Jooyandeh *et al.*, 2018; Fathipour *et al.*, 2018). از آن جمله می‌توان به مطالعه منصوری و خواجه (Mansouri & Khajeh, 2017) اشاره نمود که شاخص‌های تغذیه‌ای و فعالیت پروتئولیتیک گوارشی شب‌پره پوست خوار میوه پسته *Arimania comaroffi* (Ragonot) را روی پنج رقم پسته بررسی کردند. نتایج این مطالعه نشان داد که میوه رقم ممتاز سبب افزایش میزان تغذیه شده و پایین‌ترین مقادیر شاخص‌های تغذیه‌ای، شاخص‌های بازدهی تبدیل غذای بلعیده شده و هضم شده در لاروهای تغذیه شده با میوه رقم اوحدی و احمدآقایی بوده است. نتایج پژوهش همتی و همکاران (Hemati *et al.*, 2012) نیز نشان داده است که ارقام سحر، M₄ و JK به‌طور نسبی نسبت به کرم قوزله‌ی پنبه مقاوم بودند. نتایج تأثیر میزبان‌های مختلف گیاهی از جمله، لوبیا معمولی، لوبیا سفید، لوبیا قرمز، لوبیا چشم‌بلبلی، گوجه‌فرنگی و سیب‌زمینی روی شاخص تغذیه‌ای کرم قوزله‌ی پنبه نشان داده است که گوجه‌فرنگی رقم مشکین میزبان مناسبی برای تغذیه‌ی کرم قوزله‌ی پنبه نمی‌باشد

است. تأثیر یک‌بار پاشش بهاره کلسیم، روی و اوره بر تراکم جمعیت پسیل معمولی پسته در شرایط باغ‌های پسته رفسنجان توسط روحانی و سمیع (Rouhani & Samih, 2012) نشان داده است که ترکیب اوره، روی و کلسیم تأثیر مثبتی روی کنترل تخم و پوره‌های پسیل پسته داشته. تأثیر رقم و کود ازته روی بروز سن سورگوم (*Eurystylus oldi* Poppius (Hem.: Miridae)) توسط محقق دیگری مطالعه شده است (Tanzubi, 2014) و نتایج نشان داده که استفاده بیش از حد از کود ازته سبب افزایش جمعیت آفات سورگوم می‌شود. در مطالعه‌ای دیگر تأثیر کودهای ازته روی پارامترهای بیولوژیک شته سیاه افاقی (*Aphis craccivora*) بررسی شده است (Hosseini et al., 2015) و نتایج آن نشان داده که مصرف بیشتر کودهای ازته باعث افزایش جمعیت و پارامترهای رشدی شته روی گیاهان شده است.

بررسی‌های کمتری روی تأثیر گیاه میزبانی که تحت تیمارهای مختلف غذایی از جمله کودهای ازته قرار گرفته باشد روی بیواکولوژی و فیزیولوژی کرم قوزه پنبه انجام شده است. لذا هدف این پژوهش، بررسی شاخص‌های تغذیه‌ای و مطالعه فعالیت آنزیم‌های گوارشی کرم قوزه پنبه پرورش یافته روی ارقام مختلف کلزای تیمار شده با مقادیر مختلف نیتروژن بود. بررسی میزان تأثیر کودهای ازته، که عمدتاً سبب رشد بیشتر سبزینه و مهم‌تر از آن تولید بیشتر میزان پروتئین در گیاهان می‌شوند، روی میزان رشد و نمو و هضم و جذب و در نهایت نوسانات وزن حشره ضروری می‌باشد.

مواد و روش‌ها

پرورش گیاهان با مقادیر مختلف کود ازته

در این پژوهش از بذرهای سه رقم کلزا به نام‌های Sarigol، Rgs003 و Slm046 استفاده شد. در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ابتدا تعداد سه بذر در هر گلدان یک لیتری که حاوی مقادیر مساوی خاک برگ، ماسه و خاک رس بود کشت شد. پس از

(Hemati et al., 2012). باقری و همکاران (Bagheri et al., 2013)، شاخص تغذیه‌ای کرم قوزه روی دانه‌های پنج میزبان گیاهی شامل، لویا چشم‌بلیلی، نخود، سویا، لویا معمولی و ذرت را در شرایط آزمایشگاهی بررسی و بالاترین مقادیر شاخص‌های تبدیل غذای بلعیده شده و هضم شده و شاخص رشد نسبی را در لاروهای تغذیه شده با لویا چشم‌بلیلی گزارش کردند. همچنین فتحی‌پور و همکاران (Fathipour et al., 2018)، شاخص تغذیه‌ای کرم قوزه تغذیه شده با ژنوتیپ‌های مختلف کلزا را بررسی نموده‌اند. نتایج این آزمایش نشان داد که ژنوتیپ‌های Okapi و Talaye به ترتیب میزبان‌های مناسب و نامناسبی برای لاروهای کرم قوزه بودند. جوینده و همکاران به بررسی شاخص تغذیه‌ای *H. armigera* روی ۱۰ رقم گوجه فرنگی پرداختند و نتایج شاخص‌های تغذیه‌ای و تجزیه خوشه‌ای مشخص کرد که در بین ارقام مورد آزمایش، ارقام سیوند و سوپر کوپین برای تغذیه کرم قوزه نامناسب بودند (Jooyandeh et al., 2018). تأثیر ارقام مختلف گوجه‌فرنگی روی برخی ویژگی‌های بیولوژیک کرم قوزه در شرایط آزمایشگاهی مشخص نموده است که رقم کورال و به دنبال آن ارقام ارس و سوپر چف ارقام مناسب و سوپر کوپین و سوپر اوربانا ارقام نامناسبی برای رشد و نمو لاروهای *H. armigera* هستند (Jooyandeh et al., 2018).

همچنین در پژوهش‌هایی تأثیر مصرف کود ازته در تیمارهای مختلف روی نوسانات جمعیت حشرات مختلف مطالعه شده است که به طور نمونه می‌توان به بررسی تأثیر مصرف کودهای ازته روی جمعیت سفید بالک برگ نقره‌ای (*Bemisia argentifolii*) و تولید عسلک اشاره نمود (Bi et al., 2001). همچنین اثر کود نیتروژن بر پارامترهای زیستی و نرخ ذاتی افزایش جمعیت شته سبزینه *Schizaphis graminum* (Hem.: Aphididae) توسط عباسوند و همکاران (Alasvand et al., 2009) مطالعه شده است و نتایج آن‌ها نشان داده که تغذیه شته از گیاهان کوددهی شده باعث افزایش توانایی تولیدمثلی شته در مقایسه با تیمار شاهد شده

تغذیه، وزن غذای داده شده و غذای باقیمانده، و نیز وزن فضولات تولید شده توسط هر لارو تا مرحله شفیرگی به صورت روزانه ثبت شد. به منظور تعیین وزن خشک، نمونه‌های دیگری از حشرات، برگ کلزا و فضولات لاروها هم‌زمان با انجام آزمایش اصلی، انتخاب و بعد از توزین اولیه، در دمای ۶۰ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۷۲ ساعت کاملاً خشک شده و وزن خشک آن‌ها به دست آمد. شاخص‌های تغذیه‌ای کرم قوزه پنبه روی ارقام مختلف کلزا تحت سه تیمار کود ازته و بدون استفاده از کود ازته با استفاده از فرمول‌های ارائه شده توسط والدنبائور (Waldbauer, 1968) محاسبه شدند:

$CI = E/A$: Consumption Index، شاخص مصرف،
 $AD = E-F/E$: Approximate Digestibility Efficiency of Conversion of Ingested، شاخص تقریبی هضم شونگی غذا،
 $ECI = P/E$: Food، شاخص بازدهی تبدیل غذای بلعیده شده،
 $ECD = P/E-F$: Efficiency of Conversion of Digested Food، شاخص بازدهی تبدیل غذای هضم شده،
 $RCR = E/A.T$: Consumption Rate، نرخ مصرف نسبی،
 $RGR = P/A.T$: Relative Growth Rate، نرخ رشد نسبی،
 $E =$ وزن غذای خورده شده (میلی‌گرم)، $A =$ میانگین وزن لاروها در طول دوره (میلی‌گرم)، $F =$ وزن فضولات تولید شده (میلی‌گرم)، $P =$ افزایش وزن لاروها (میلی‌گرم) و $T =$ دوره زمانی مصرف غذا (روز).

تهیه‌ی بافر

برای سنجش فعالیت‌های آنزیمی برای آزمایش‌های مربوط به تعیین اسیدیته‌ی بهینه دو نوع بافر لازم بود. بافر نخست بافری یونیورسال از فسفات-بورات سدیم ۵۰ میلی مولار بود که دامنه‌ی وسیعی از اسیدیته‌های قلیایی (اسیدیته‌های ۷ تا ۱۳) را شامل می‌شد. بافر دوم نیز با پوشش دامنه‌ی گسترده از اسیدیته‌های قلیایی و اسیدی (اسیدیته‌های ۲ تا ۱۲) ترکیبی از سوکسینات-گلیسین-۲، مورفو لینو اتان سولفونیک اسید ۱۰ میلی مولار را شامل می‌شد. در

رویش بوته‌ها، یک بوته در هر گلدان باقی گذاشته شد. تعداد ۱۶ گلدان از هر یک از سه رقم مورد مطالعه به چهار گروه شامل چهار گلدان تقسیم‌بندی شدند. تمامی گیاهان در سه مرحله در طول فصل رشد رویشی، به وسیله کود اوره و با مقادیر ۱۲۰، ۲۴۰ و ۳۶۰ کیلوگرم در هکتار پای بوته تیمار شدند، در تیمار شاهد هیچگونه کودی اضافه نشد. میزان آبیاری و مدت دور آبیاری برای همه گلدان‌ها یکسان انجام شد.

پرورش کرم قوزه پنبه در شرایط آزمایشگاه

لاروهای کرم قوزه پنبه از مزارع گوجه‌فرنگی اطراف شهر ماهان در استان کرمان جمع‌آوری شدند و به اتاقک رشد در شرایط دمایی 25 ± 2 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 55 ± 5 درصد و دوره‌ی روشنایی ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انتقال داده شدند. حشرات کامل نر و ماده شب‌پره‌ها به منظور جفتگیری به‌طور گروهی در داخل ظروف استوانه‌ای (قطر ۱۷ و ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر) قرار داده شدند. از محلول ۱۰ درصد آب عسل جهت تغذیه شب‌پره‌ها استفاده شد. تخم‌های هم‌سن روی هر یک از سه رقم کلزا پرورش داده شدند و از تخم‌های به دست آمده از حشرات کامل جفتگیری کرده نسل دوم برای شروع آزمایش استفاده شد. پس از تفریح تخم‌ها، لاروهای نئونات توسط قلم‌موی ظریف درون ظروف پلاستیکی درب‌دار گرد (قطر ۱۹/۵ و ارتفاع ۷/۵ سانتی‌متر) قرار داده شدند

شاخص‌های تغذیه‌ای کرم قوزه پنبه

آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۱۰ تکرار طراحی شد. لاروهای سن سوم (۱۰ لارو به ازای هر تیمار در هر رقم) پس از ظهور به‌طور انفرادی داخل ظروف پتری (قطر ۸ و ارتفاع ۱ سانتی‌متر) محتوی برگ هر یک از ارقام کلزای مورد آزمایش که تحت تیمارهای مختلف کود ازته قرار گرفته بودند منتقل شدند. در قسمت درپوش ظروف پرورش لاروها به‌منظور تأمین تهویه هوا سوراخ‌هایی ایجاد و با توری ۵۰ مش پوشانده شدند. وزن لاروهای سن سوم قبل و بعد از

طول موج ۴۴۰ نانومتر با استفاده از الیزاریدر (Reader Anthos 2020، ساخت اتریش) تعیین شد. در شاهد (بلانک) عصاره‌ی آنزیمی بعد از اضافه کردن اسید تری کلرواستیک به مخلوط واکنش افزوده شد. هر یک از آزمایش‌های مربوط به تیمار و شاهد در سه تکرار انجام شدند.

سنجش پروتئین کل برگ ارقام کلزا

به این منظور یک گرم بافت تر از برگ هر یک از سه رقم کلزا فاقد و با مقادیر کودی مختلف در یک هاون چینی محتوی سه میلی لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار با اسیدپت ۷/۲ به طور مجزا سائیده شد. عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در سانتریفوژ یخچال‌دار در ۱۴۰۰۰g و دمای ۴ درجه سلسیوس قرار گرفت. از محلول رویی برای سنجش پروتئین استفاده گردید. برای سنجش مقدار پروتئین از روش (Bradford 1976) استفاده شد. به این منظور به لوله‌های آزمایش مقدار ۰/۱ میلی لیتر عصاره پروتئینی و پنج میلی لیتر معرف برادفورد افزوده و سریعاً ورتکس شد. پس از ده دقیقه جذب آنها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد و غلظت پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد آلومین گاو و محاسبه و بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید و این اندازه‌گیری برای هر رقم در سه تکرار انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

قبل از تجزیه و تحلیل آماری، داده‌ها با استفاده از لگاریتم پایه ۱۰ نرمال سازی شدند. نتایج حاصل از اثر ارقام مختلف کلزا با مقادیر مختلف کود از ته روی شاخص‌های تغذیه‌ای، فعالیت آنزیم‌های گوارشی پروتئازی و میزان پروتئین کل برگ ارقام کلزا، برای هر یک از سه رقم آزمایشی، با استفاده از روش تجزیه واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و به وسیله نرم افزار آماری SPSS 22.0 تجزیه آماری شد. اختلاف‌های آماری در بین میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال پنج درصد بررسی شد.

آزمایش‌های آنزیمی مربوط به پروتئازها از بافر فسفات بورات سدیم و در سنجش‌های آنزیمی مربوط به آمیلازها از بافر سوکسینات-گلایسین-۲، مورفولینواتان سولفونیک اسید استفاده شد (Hosseinaveh, 2007).

تهیه عصاره‌ی آنزیمی از روده‌ی میانی لارو کرم قوزه پنبه

در مطالعه‌ای مستقل از آزمایش تعیین شاخص‌های تغذیه‌ای، پس از تغذیه لاروهای *H. armigera* از ارقام مختلف کلزا، لارو سن پنجم ۲۴ ساعته، روی یخ بی‌حس شده و در زیر استریومیکروسکوپ در آب مقطر سرد تشریح شد. روده-ی میانی پس از جداسازی از سایر قسمت‌ها، در حجم معینی از آب مقطر در میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی لیتری جمع‌آوری شد. سپس روده‌ی میانی با استفاده از یک هموژنایزر دستی در روی یخ همگن و مخلوط‌های همگن حاصل در دمای ۴ درجه‌ی سلسیوس با سرعت (xg) ۱۶۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند. رونشین‌های حاصل به منظور سنجش فعالیت پروتئولیتیک و آمیلولیتیک روده‌ی میانی لارو آفت استفاده شد (Hosseinaveh, 2007).

تعیین فعالیت پروتئاز کل کرم قوزه پنبه روی ارقام مختلف کلزا در اسیدپت‌های مختلف

برای سنجش فعالیت پروتئاز کل عصاره‌ی روده‌ی میانی لارو در اسیدپت‌های مختلف (اسیدپت‌ی ۷ تا ۱۲)، سوسترای پروتئینی آزوکازئین بر مبنای روش الپیدینا و همکاران (Elpidina, 2001) با کمی تغییر استفاده شد. مخلوط واکنش شامل ۸۰ میکرولیتر محلول آزوکازئین ۱/۵ درصد در بافر یونیورسال و ۵۰ میکرولیتر عصاره‌ی آنزیمی بود که به مدت ۵۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه شد. هضم پروتئینی با اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر اسید تری کلرواستیک ۳۰ درصد متوقف و آزوکازئین هیدرولیز نشده‌ی موجود در واکنش با قرار دادن در دمای ۴ درجه‌ی سلسیوس به مدت نیم ساعت به طور کامل رسوب داده شد و سپس با سرعت (xg) ۱۶۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. حجمی مساوی از هیدروکسید سدیم دو مولار به رونشین اضافه و جذب آن در

نتایج

اوره متغیر بود. این میزان در لاروهای تغذیه شده با رقم Rgs003 از $26/4 \pm 2/1$ درصد تا $55/4 \pm 3/6$ درصد در تیمار 360 در نوسان بود و در رقم SIm046 مقدار این شاخص بین $27/8 \pm 2/6$ درصد در شاهد تا $59/4 \pm 7/9$ درصد در تیمار 360 متفاوت بود (جدول ۱). همچنین نتایج نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری بین شاخص‌های مذکور بین لاروهای تغذیه شده با تیمارهای 120 و 240 کیلوگرم در هکتار کود ازته در هر سه رقم کلزا وجود نداشته است (جدول ۱). مشابه این نتایج در مورد میزان میزان فعالیت پروتئازی گوارشی کل لارو نیز صادق بود (جدول ۲). به‌طوری‌که در لاروهای پرورش یافته روی رقم Sarigol میزان فعالیت پروتئازی کل از

در کلیه شاخص‌های تغذیه‌ای محاسبه شده کمترین میزان هر یک از شاخص‌ها شامل شاخص مصرف، هضم شونده‌گی غذا، بازدهی تبدیل غذای بلعیده شده و هضم شده و همچنین نرخ رشد نسبی و نرخ مصرف نسبی در تیمار شاهد (بدون تیمار کود ازته) و بیشترین آن در لاروهای پرورش یافته روی برگ بوته های تیمار شده با 360 کیلوگرم در هکتار کود ازته به‌دست آمد (جدول ۱). به‌طور نمونه در رقم Sarigol مقدار مهم‌ترین شاخص تغذیه‌ای (شاخص بازدهی تبدیل غذای هضم شده) از $22/6 \pm 1/8$ درصد در تیمار بدون کود تا $53/9 \pm 3/8$ درصد در تیمار معادل 360 کیلوگرم در هکتار کود

جدول ۱- شاخص‌های تغذیه‌ای (میانگین \pm خطای معیار) لارو کرم قوزه پنبه پرورش یافته روی ارقام مختلف کلزا تیمار شده با مقادیر مختلف کود ازته.

Table 1. Nutritional indices (Mean \pm SE) of *Helicoverpa armigera* larvae reared on different rapeseed cultivars under different nitrogen treatments.

Cultivars	N (kg/ha)	CI	AD (%)	ECI (%)	ECD (%)	RGR (mg/mg/d)	RCR (mg/mg/d)
Sarigol	0	3.3 \pm 0.4 c	59.7 \pm 2.1c	19.6 \pm 1.1c	22.6 \pm 1.8 c	0.11 \pm 0.007 c	0.48 \pm 0.011c
	120	4.3 \pm 0.3 b	66.3 \pm 3.4 b	30.3 \pm 2.3 b	35.5 \pm 2.5 b	0.24 \pm 0.009 b	0.57 \pm 0.019 b
	240	4.6 \pm 0.5 b	72.1 \pm 4.6 b	33.7 \pm 2.6 b	38.4 \pm 2.7 b	0.27 \pm 0.011 b	0.61 \pm 0.032 b
	360	5.8 \pm 0.5 a	86.2 \pm 5.3 a	42.1 \pm 3.4 a	53.9 \pm 3.8 a	0.31 \pm 0.015 a	0.71 \pm 0.025 a
Rgs003	0	3.1 \pm 0.4 c	58.5 \pm 2.7 c	19.4 \pm 1.4 c	26.4 \pm 2.1 c	0.12 \pm 0.0008 c	0.54 \pm 0.018 c
	120	4.4 \pm 0.4 b	68.6 \pm 4.2 b	22.5 \pm 2.3 b	39.7 \pm 3.2 b	0.26 \pm 0.009 b	0.61 \pm 0.026 b
	240	4.8 \pm 0.4 b	74.1 \pm 4.7 b	25.8 \pm 2.8 b	44.5 \pm 3.1 b	0.28 \pm 0.012 b	0.64 \pm 0.031 b
	360	5.7 \pm 0.6 a	83.9 \pm 5.5 a	38.6 \pm 3.5 a	55.3 \pm 4.6 a	0.33 \pm 0.017 a	0.75 \pm 0.038 a
SIm046	0	3.5 \pm 0.4 c	60.04 \pm 3.1 c	22.7 \pm 2.1 c	27.8 \pm 2.6 c	0.18 \pm 0.008 c	0.58 \pm 0.022 c
	120	4.7 \pm 0.3 b	69.4 \pm 4.8 b	28.2 \pm 2.9 b	43.6 \pm 3.7 b	0.28 \pm 0.014 b	0.73 \pm 0.029 b
	240	5.0 \pm 0.4 b	74.6 \pm 4.6 b	34.3 \pm 3.4 c	46.5 \pm 3.8 b	0.31 \pm 0.018 b	0.76 \pm 0.035 b
	360	5.9 \pm 0.4 a	88.5 \pm 5.7 a	43.9 \pm 3.7 a	59.7 \pm 4.9 a	0.35 \pm 0.021 a	0.80 \pm 0.041 a

حروف غیر مشابه در هر ستون (در هر کدام از رقم‌های کلزا) نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در مقایسه بین میانگین‌ها می‌باشند (براساس آزمون توکی در سطح احتمال پنج درصد).

Means followed by different letters within a column (in each rapeseed cultivar) are significantly different ($P < 0.05$, Tukey, HSD).

جدول ۲- میزان فعالیت پروتئولیتیک معده میانی (میانگین \pm خطای معیار) لارو کرم قوزه پنبه و میزان پروتئین برگ (میانگین \pm خطای معیار)

ارقام کلزا تیمار شده با مقادیر مختلف کود ازته.

Table 2. Midgut proteolytic activity (Mean \pm SE) of *Helicoverpa armigera* larvae and total leaf protein (Mean \pm SE) of different rapeseed cultivars under different nitrogen treatments.

cultivars	N (kg/ha)	Midgut proteolytic activity (U/mg)	Total leaf protein (mg/ gr FW)
Sarigol	0	2.101 \pm 0.165 c	50 \pm 4 d
	120	3.263 \pm 0.207 b	62 \pm 4 c
	240	3.675 \pm 0.259 b	69 \pm 5 b
	360	5.780 \pm 0.098 a	82 \pm 5 a
Rgs003	0	2.257 \pm 0.187 a	51 \pm 3 d
	120	3.478 \pm 0.096 b	63 \pm 3 c
	240	4.129 \pm 0.542 b	72 \pm 4 b
	360	5.893 \pm 0.376 a	84 \pm 5 a
SIm046	0	2.405 \pm 0.289 c	51 \pm 3 d
	120	4.877 \pm 0.107 b	60 \pm 5 c
	240	4.413 \pm 0.212 b	72 \pm 4 b
	360	5.939 \pm 0.325 a	87 \pm 6 a

حروف غیر مشابه در هر ستون (در هر کدام از رقم‌های کلزا) نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در مقایسه بین میانگین‌ها می‌باشند (براساس آزمون توکی در سطح احتمال پنج درصد).

Means followed by different letters within column (in each rapeseed cultivar) are significantly different ($P < 0.05$, Tukey, HSD).

قوزه پنبه پرورش یافته روی ارقام مختلف کلزا که تحت تیمارهای کودی بوده‌اند، شده است. بین تیمار ۱۲۰ و ۲۴۰ کیلوگرم کود اوره در هکتار تحریک ترشح آنزیم معنی‌دار نبود و در نتیجه شاخص‌های تغذیه‌ای نیز به تبع آن تغییر معنی‌داری نداشتند. این نتایج نشان می‌دهد که جذب و دفع بین لاروهای پرورش یافته روی تیمار ۱۲۰ و ۲۴۰ نزدیک به هم بوده است اما با استفاده بیشتر از کود ازته در تیمار ۳۶۰ افزایش معنی‌داری در کلیه شاخص‌ها و فعالیت آنزیم به سبب تحریک بیشتر سیستم ترشح آنزیمی و گوارش حشره مشاهده شد. در تحقیق حاضر، فعالیت پروتئولیتیک روده‌ی میانی کرم قوزه پنبه روی ارقام مختلف کلزا نشان داد که بین تیمار ۱۲۰ و ۲۴۰ اختلاف معنی‌داری وجود نداشت اما تفاوت میزان پروتئین برگ در بین همه تیمارها دارای اختلاف معنی‌دار بود. این بدان معناست که سیستم گوارشی حشره به افزایش تولید پروتئین بین تیمار ۱۲۰ و ۲۴۰ عکس‌العمل معنی‌داری نشان نداده است. وانگ و تسای (Wang & Tsai, 2006) اثر کودهای ازته را روی رشد و نمو، بقا و باروری زنجبرک ذرت (*Peregrinus maidis*) مطالعه نمودند و نتایج آن‌ها نشان داد که مصرف بیشتر کود ازته به‌طور معنی‌داری روی افزایش زیست توده لاروی، افزایش باروری، افزایش طول عمر حشرات بالغ و کاهش طول دوره زیستی مراحل نابالغ اثر داشته است. نتایج این پژوهش در مورد افزایش زیست توده لاروی با نتایج تحقیق حاضر مشابهت دارد. محققین دیگری با مطالعه تاثیر مصرف کودهای ازته روی جمعیت سفید بالک برگ نقره‌ای (*Bemisia argentifolii*) و تولید عسلک نشان دادند که هر چه مصرف نیتروژن بیشتر باشد جمعیت حشرات کامل و مراحل نابالغ بیشتر شده و تولید عسلک نیز افزایش می‌یابد (Bi et al., 2001). مشابه نتایج فوق، در مطالعه حاضر نیز مشخص شد که تغذیه از گیاهانی که با سطوح بالاتر کود ازته تیمار شده‌اند و مصرف بیشتر نیتروژن سبب رشد مرحله نابالغ (لاروی) کرم قوزه پنبه شده است و به تبع آن شاخص‌های تغذیه‌ای و فعالیت پروتئازی آفت نیز تحت تأثیر آن قرار

در تیمار شاهد تا $2/101 \pm 0/165$ در تیمار شاهد تا $5/780 \pm 0/098$ در تیمار معادل ۳۶۰ کیلوگرم در هکتار کود اوره متغیر بود. این میزان در لاروهای تغذیه شده با رقم Rgs003 از $2/257 \pm 0/187$ تا $5/893 \pm 0/376$ در تیمار ۳۶۰ در نوسان بود و در رقم SIm046 مقدار این صفت بین $2/405 \pm 0/289$ در شاهد تا $7/939 \pm 0/325$ در تیمار ۳۶۰ متفاوت بود (جدول ۲). همچنین نتایج اندازه‌گیری میزان پروتئین کل برگ سه رقم کلزا نشان داد که با افزایش مقدار ازت مصرفی، این مقدار نیز به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است به‌طوری‌که در هر سه رقم کلزا کمترین و بیشترین میزان پروتئین کل برگ در تیمار شاهد و تیمار ۳۶۰ مشاهده شده است (جدول ۲).

بحث

نتایج به‌دست آمده از مطالعه‌ی شاخص‌های تغذیه‌ای سنین لاروی کرم قوزه پنبه روی ارقام مختلف کلزا با مقادیر مختلف کود ازته به‌طور معنی‌داری متفاوت بود. این تفاوت می‌تواند به دلیل وجود اختلاف در نیازهای غذایی حشره در طول مراحل مختلف رشد و نمو باشد که نتیجه‌ی این تفاوت معمولاً با تغییر در مصرف غذا و رفتار تغذیه‌ای همراه است (Barton Browne, 1995). دوره‌ی رشد و نمو لارو بال‌پولک‌دارانی که از میزبان‌های گیاهی با ارزش غذایی بالا تغذیه می‌کنند، علاوه بر اینکه زیست‌توده لاروی بیشتری ایجاد می‌شود، سریع‌تر از لاروهای است که از غذاهای با ارزش غذایی پایین تغذیه می‌کنند (Hwang et al., 2008). پژوهش محققین فوق در ارتباط با تأثیر مصرف کودهای ازته روی شاخص‌های رشدی و فیزیولوژی گیاه کلم و دو گونه حشره آفت بید کلم گونه‌های *Pieris rapae* و *Pieris canidia* انجام شده است. پروتئین موجود در برگ ارقام کلزا یکی از عوامل مؤثر در مقادیر شاخص‌های نرخ رشد نسبی و نرخ مصرف نسبی می‌باشد. مصرف کود ازته سبب افزایش پروتئین‌سازی در گیاه شده است که در نتیجه باعث افزایش شاخص‌های مختلف تغذیه‌ای و فعالیت آنزیمی پروتئازی کرم

میزان تغذیه آفت و شاخص‌های مربوطه در زمان استفاده از تیمارهای ۱۲۰ و ۲۴۰ کیلوگرم در هکتار کود ازته مشاهده نشد در صورتی که کاربرد میزان ۳۶۰ کیلوگرم کود ازته در هکتار سبب افزایش معنی‌دار میزان تغذیه لاروهای آفت و کلیه شاخص‌های تغذیه‌ای و همچنین افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌ها گوارشی پروتئازی شد. در نتیجه بر اساس نتایج این تحقیق بایستی از مصرف میزان بیش از اندازه به‌دلیل آنکه باعث افزایش تغذیه گیاهخواران و خسارت بیشتر به گیاه می‌شود جلوگیری شود. در نتیجه پیشنهاد می‌شود در مورد گیاهان زراعی مختلف بر اساس تیمارهای کود ازته آستانه تحریک تغذیه آفات کلیدی آن‌ها مشخص شود.

سپاسگزاری

این مقاله مربوط به مطالعات انجام شده طرح پژوهشی به قرارداد شماره ۹۷/۱۸۴/ص/۷ می‌باشد که در پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان به ثبت رسیده است. نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از مسئولین پژوهشگاه و دانشگاه اعلام می‌دارند.

گرفته است. حداد و همکاران (Haddad et al., 2000) تأثیر کود ازته روی نوسانات جمعیت حشرات مختلف گیاه‌خوار و دشمنان طبیعی آن‌ها از جمله شکارگرها و پارازیتوئیدها را بررسی نمودند و نتایج آن‌ها نشان داد که مصرف بلند مدت کودهای ازته با وجود اینکه باعث کاهش تنوع زیستی در گونه‌های حشرات می‌شود اما در گونه‌های موجود سبب افزایش تعداد و تراکم جمعیت خواهد شد. مطالعه محققین دیگری در ارتباط با مطالعه اثر تغذیه گیاه روی حشرات مکنده نشان داد که استفاده بی‌رویه از کودها مانند کودهای ازته سبب به هم خوردن تعادل میزان مواد غذایی در گیاه شده و در نهایت باعث افزایش جمعیت حشرات مکنده راسته ناجوربالان روی گیاهان تیمار شده می‌شود (Sing and Sood, 2017). نتایج مطالعات مذکور مشابه پژوهش حاضر بیان‌گر تأثیر مثبت کودهای ازته روی زیست توده و رشد جمعیت حشرات مختلف می‌باشد.

براساس نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر با افزایش میزان کود ازته میزان پروتئین سازی در برگ ارقام مختلف افزایش و به تبع آن میزان فعالیت پروتئازی لارو کرم قوزه برای هضم و جذب پروتئین گیاهی افزایش یافت. همان‌گونه که از نتایج تحقیق حاضر مشخص شد تفاوت معنی‌داری بین

References

- ALASVAND-ZARASVAND, A., A. HAGSHENAS, D. AFIONI-MOBARAKEH, A. SABOORI and S. ZARGAMI, 2009. Effect of nitrogen on life history parameters and intrinsic rate of increase of population of the green wheat aphid (*Schizaphis graminum* R.) (Hom.: Aphididae). The Plant Protection. 32: 67-74.
- BAGHERI, F., Y. FATHIPOUR, and B. NASERI. 2013. Nutritional indices of *Helicoverpa armigera* (Lep.: Noctuidae) on seeds of five host plants. Applied Entomology and Phytopathology. 80: 19-28.
- BANSODE, G. M. and M. S. PUROHIT, 2013. Effect of different level of nitrogenous fertilizer on larval and post larval development of *Plutella xylostella* (linn.) infesting cauliflower. The Bioscan. 8: 545-548.
- BARTON BROWNE, L., 1995. Ontogenetic changes in feeding behavior. In: Chapman RF, Boer Gde, editors. Regulatory Mechanisms in Insect Feeding, pp. 307-342. Chapman and Hall.
- BI, J.L., G.R. BALLMER, D.L. HENDRIX, T.J. HENNEBERRY2 and N.C. TOSCANO, 2001. Effect of cotton nitrogen fertilization on *Bemisia argentifolii* populations and honeydew production. Entomologia Experimentalis et Applicata. 99: 25-36.
- BRADFORD, M.A., 1976. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein

- utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72: 248-254.
- ELPIDINA, E.N., K.S. VINOKUROV, V.A. GROMENKO, Y.A. RUDENSHAYA, Y.E. DUNAEVSKY and D. P. ZHUZHNIKOV, 2001. Compartmentalization of proteinases and amylases in *Nauphoeta cinerea* midgut. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*. 48: 206-216.
- FATHIPOUR, Y., E. CHEGENI, and S. MOHARRAMIPOUR, 2018. Genotype-Associated Variation in Nutritional Indices of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) Fed on Canola. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 20: 83-94.
- FERNANDEZ, L.A., P. ZALBA, M. A. GOMEZ, and M. A. SAGARDOY, 2007. Phosphate solubilization activity of bacterial strains in soil and their effect on soybean growth under greenhouse conditions. *Biology and Fertility of Soils*. 43: 805-809.
- HADDAD, N. M., J. HAARSTAD and D. TILMAN, 2000. The effects of long-term nitrogen loading on grassland insect communities. *Oecologia*. 124:73-84.
- HEMATI, S. A., B. NASERI, N., G. NOURI GANBALANI, H. RAFIEE DASTJERDI and A. GOLIZADEH, 2012. Effect of different host plants on nutritional indices of the pod borer, *Helicoverpa armigera*. *Journal of Insect Science*. 12: 1-15.
- HOSSEINI, M., M. GOLDANI, J. KARIMI, and H. MADADI, 2015. Effect of Nitrogen Fertilizer on Biological Parameters of the *Aphis craccivora* (Hemiptera: Aphididae) and Associated Productivity Losses in Common Globe Amaranth. *Journal of Agriculture Science and Technology*. 17: 1517-1528.
- HOSSEININAVEH, V., A. BANDANI, P. AZMAYESHFARD, S. HOSSEINKHANI, and M. KAZEMI, 2007. Digestive proteolytic and amylolytic activities in *Trogoderma granarium* Everts (Dermestidae: Coleoptera). *Journal of Stored Products Research*. 43: 515-522.
- HWANG, S.Y., C.H., LIU, T.C. SHEN, 2008. Effects of plant nutrient availability and host plant species on the performance of two *Pieris* butterflies (Lepidoptera: Pieridae). *Biochemical Systematics and Ecology*. 36: 505-513.
- JOOYANDEH, A., N. MOEINI-NAGHADEH, H.A. VAHEDI and A. HOSSEINI GHARALARI, 2018. Nutritional indices and food utilization of tomato fruit worm, *Helicoverpa armigera* (Hubner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae) on ten tomato cultivars. *Journal of Entomological Society of Iran*. 37: 493-506.
- KIM, D.S., J.H. LEE, 2002. Egg and larval survivorship of *Carposina sasakii* (Lepidoptera: Carposinidae) in apple and peach and their effects on adult population dynamics on orchards. *Environmental Entomology*. 31: 686-692.
- MALAKOUTI, M.J., 2006. A Look at the fertility status of Iranian soils (evaluation and utilization). Sana Press. 503pp.
- MANSOURI, S.M., G. NOURI GONBALANI, S.A.A. FATHI, B. NASERI, and J. RAZMJO, 2013. Nutritional Indices and Midgut Enzymatic Activity of *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae) Larvae Fed Different Potato Germplasms. *Journal of Economic Entomology*. 106: 1018- 1024.
- MANSOURI, S.M. and F. KHAJEH, 2017. Feeding indices and proteolytic enzymatic activity of pistachio hull borer, *Arimania comaroffi* (Rogonot) (Lep.: Pyralidae) on five pistachio cultivars. *Journal of Entomological Society of Iran*. 37: 321-331. [In Persian with English summary].
- NATHAN, S.S., KALAIVANI, K., MURUGAN, K. CHUNG, P.G., 2005. Efficacy of neem limonoids on *Cnaphlocrocis medinalis* (Guenee) (Lepidoptera: Pyralidae) the rice leafholder. *Journal of Crop Protection*. 24: 760-763.
- NASERI, B., Y. FATHIPOUR, S. MOHARRAMIPOUR and V. HOSSEININAVEH, 2010. Nutritional Indices of the Cotton Bollworm, *Helicoverpa armigera*, on 13 Soybean Varieties. *Journal of Insect Science* 10: 1-14.
- NAZARI, M. and S. FALLAH, 2015. The response of nitrogen, phosphorus and zinc efficacy to chemical and biological fertilizer compounds in greenhouse

- cultivation (excessive consumption of nitrogen fertilizer). Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture. 6: 99-110.
- OMIDI, H., Z. TAHMASEBI, H.A. NAGHDI BADI, H. TORABI, and M. MIRANSARI, 2010. Fatty acid composition of canola (*Brassica napus* L.), as affected by agronomical, genotypic and environmental parameters. Comptes Rendus Biologies. 333: 248-254.
- RAFIQ, M., A. GHAFAR, and M. ARSHAD, 2008. Population dynamics of whitefly (*Bemisia tabaci*) on cultivated crop hosts and their role in regulating its carry-over to cotton. International Journal of Agriculture & Biology. 9: 68-70.
- ROUHANI, M. and M.A. SAMIH, 2013. The effect of once spring application of Calcium, Zinc and Urea on population density of common pistachio psylla *Agonoscena pistaciae* (Hem: Aphalaridae) in pistachio orchards of Rafsanjan. Plant Pests Research. 9: 35-44.
- SAFFARI, M., M. MADADI-ZADEH and F. SHARIATINIA, 2011. Study of nutrition effects with nitrogen, bore and sulphour on quality and quantity traits of safflower. Iranian Journal of Crop Sciences. 42:131-141. [In Persian with English summary].
- SALARDINI, A.A. 2005. The soil fertility. Tehran Univaerity Press. 434pp.
- SINGH, V. and A.K. SOOD. 2017. Plant Nutrition: A tool for the management of hemipteran insect-pests-A review Agricultural Reviews. 38: 260-270.
- TANZUBIL, P.B. 2014. Effect of variety and nitrogen fertilization on insect pest incidence in sorghum in the Sudan Savanna of Ghana. Journal of Entomology and Zoology Studies. 2: 12-15.
- TSAI, J.H. and J.J. WANG. 2001. Effects of host plants on biology and life table parameters of *Aphis spiraecola* (Homoptera: Aphididae). Environmental Entomology. 30: 45-50.
- VALENCIA-JIMEÑEZ, A., ARBOLEDA, J.W., LOPEZ AVILA, A., and M.F. GROSSI-DE-SA, 2008. Digestive α -amylases from *Tecia solanivora* larvae (Lepidoptera: Gelechiidae): response to pH, temperature and plant amylase inhibitors. Bulletin of Entomological Research. 98: 575-579.
- WALDBAUER, G.P. 1968. The consumption and utilization of food by insects. Advanced in Insect Physiology. 5: 229.288.
- WANG, J. J. and J. H. TSAI. 2006. Broschat Effect of nitrogen fertilization of corn on the development, survivorship, fecundity and body weight of *Peregrinus maidis* (Hom., Delphacidae) Journal of Applied Entomology. 130: 20-25.