Journal of Iranian Plant Protection Research

https://jpp.um.ac.ir

Research Article
Vol. 37, No. 1, Spring 2023, p. 21-32

Effect of Diet on Some Physiological and Biological Parameters of Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae)

E. Mohajjel Farshbaf[1], R. Farshbaf Pourabad[2], Sh. Ashouri[3*]

Received: 22-10-2022
Revised: 18-12-2022
Accepted: 25-01-2023
Available Online: 25-01-2023

How to cite this article:
Mohajjel Farshbaf, E., Farshbaf Pourabad, R., & Ashouri, Sh. (2023). Effect of diet on some physiological and biological parameters of Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Iranian Plant Protection Research 37*(1): 21-32. (In Persian with English abstract). http:doi.org/10.22067/jpp.2023.79306.1111

Introduction

The Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) (Hubner, 1813) is one of the most important and well-known stored-product pests in most parts of the world. The larvae of this insect are omnivorous and have the ability to grow and reproduce on a wide variety of grains, dried fruits, dried vegetables, nuts, oil seeds, chocolate, animal feed and various processed products. Therefore, it causes economic losses to various agricultural and stored products. On the other hand, this insect is used as a host in the rearing of various useful insect species. In general, the Indian moth eats carbohydrate-rich foods, and its growth and development is highly dependent on biochemical compounds and especially the quality and quantity of nutrients in its diet. The enzymes like amylase and pectinase in the digestive system of the lepidoperan larvae, which are secreted by the cells of the midgut, play an effective role in the digestion and absorption of food. Investigating some of the biological and physiological properties of this insect on various types of foods will help to optimize the rearing of this insect for management studies and also as a host for rearing of other pest insect's predators and parasitoids.

Materials and Methods

In this study, we investigated the effects of different diets, namely raisin, fig, pistachio, peanut, almond, and walnut, which are known to be the main hosts of the Indian meal moth, on the protein content in the last instar larval gut. We compared their protein patterns and content using SDS-PAGE. Additionally, we measured the activities of the digestive enzymes alpha-amylase and pectinase using the DNS (Dinitrosalicylic acid) assay. Alpha-amylase activity was assessed using 1% starch as a substrate, while pectinase activity was measured using pectin as the substrate. To facilitate a better comparison of the relative enzymatic activities, the activities were calculated as a percentage of the highest enzymatic activity. Furthermore, we compared several biological parameters, including the incubation period, larval period, pupal period, adult longevity, life span, and adult emergence.

Results and Discussion

The results of the study revealed that the Indian meal moth larvae had the lowest amounts of gut protein when fed on figs and raisins, while the highest amounts were observed in larvae fed on pistachios, peanuts, almonds, and walnuts. The determination of protein levels using the Bradford method and SDS-PAGE gel electrophoresis yielded consistent results, clearly indicating the protein concentrations in the samples. The activity of the alpha-amylase enzyme in the larvae's gut was highest in those fed on pistachios and lowest in

1 and 2- Master Student and Professor of Agricultural Entomology in Department of Plant Protection, University of Tabriz, Tabriz, Iran, respectively.
3- Assistant Professor of Agricultural Entomology in Department of Plant Protection, Nuclear Agriculture Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, Karaj, Iran
(*- Corresponding Author Email: shashouri@aeoi.org.ir)
DOI: 10.22067/jpp.2023.79306.1111

those fed on figs. Similarly, the pectinase enzyme showed the highest activity in larvae fed on pistachios and the lowest activity in those fed on raisins. The embryonic period of the Indian meal moth remained consistent across different diets. However, when comparing the duration of the larval period, pupal period, and overall growth period, the shortest duration was observed in larvae fed on pistachios, while the longest duration was seen in those fed on raisins. The length of the growth period tends to increase when the insect is fed on less desirable food sources. Regarding lifespan, the shortest duration was observed in the diets consisting of almonds and pistachios, while the longest lifespan was recorded in those fed on raisins. When examining adult emergence, the diets of almonds and figs showed the highest and lowest values, respectively. In conclusion, pistachios, almonds, and walnuts were found to be more favorable diets for the Indian meal moth larvae compared to peanuts, figs, and raisins.

Conclusion

This study aimed to determine the optimal diet for rearing the Indian meal moth. The investigated diets, which are major food sources for this insect, were found to have an impact on the amount and concentration of intestinal protein in the last instar larvae, as well as the activity of alpha-amylase and pectinase enzymes. Significant differences were observed in various physiological and biological components among the diets. The highest values for all these components were observed in the larvae reared on a pistachio diet, while the lowest values were found in those reared on fig and raisin diets. Based on the findings of this research, it can be concluded that pistachio, walnut, and almond diets are favorable and suitable for laboratory breeding of the Indian meal moth, compared to peanut, raisin, and fig diets. Among these diets, pistachio was identified as the most optimal choice.

Keywords: Alpha-amylase, Biological components, Indian meal moth, Pectinase, Protein

نشریه پژوهش‌های حفاظت گیاهان ایران
https://jpp.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷، شماره ۱، بهار ۱۴۰۲، ص. ۳۲-۲۱

تاثیر رژیم غذایی روی چند مولفه فیزیولوژیک و زیستی شب‌پره هندی *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae)

الهام محجل فرشباف[۱]- رضا فرشباف پورآباد[۲]- شبنم عاشوری[۳*]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۷/۳۰
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۹/۲۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۰۵

چکیده

شب‌پره هندی *Plodia interpunctella* (Hübner, 1813) (Lepidoptera: Pyralidae) آفت بسیار مهم مواد غذایی در انبارهای سراسر ایران می‌باشد. قدرت بالای این حشره در جستجو و تشخیص مواد غذایی و تغذیه از انواع خشکبار از جمله غلات، خشکبار، سبزیجات خشک، آجیل و دانه‌های روغنی، سبب خسارت‌های جبران ناپذیری به فرآورده‌های انباری می‌گردد. بررسی برخی ویژگی‌های زیستی و فیزیولوژیک این حشره روی انواع خشکبار می‌تواند در پرورش بهتر این حشره برای مطالعات مدیریتی و همچنین به عنوان میزبان برای پرورش حشرات مفید کاربرد داشته باشد. در این مطالعه میزان پروتئین موجود در روده لاروهای سن آخر این شب‌پره در اثر تغذیه از رژیم‌های غذایی مختلف (گردو، کشمش، بادام، بادام زمینی، انجیر و پسته) تعیین شد و الگوهای پروتئینی آن‌ها با استفاده از الکتروفورز ژل پلی‌آکریل‌آمید واسرشت‌گر (SDS-PAGE) مقایسه گردید. کم‌ترین میزان پروتئین در روده حشرات تغذیه کرده از انجیر و کشمش و بیش‌ترین به ترتیب در لاروهای تغذیه کرده از رژیم غذایی پسته، بادام زمینی، بادام و گردو مشاهده شد. تعیین مقدار پروتئین از مطالعه رنگ‌سنجی با استفاده از روش بردفورد و تصویر مربوط به ژل پلی‌آکریل‌آمید واسرشت‌گر با هم هم‌خوانی داشتند و غلظت پروتئین نمونه‌ها به وضوح در ژل نیز نمایان بود. فعالیت آنزیم‌های آلفا- آمیلاز و پکتیناز روده این لاروها نیز سنجش شد. فعالیت آنزیم آلفا- آمیلاز در روده لاروهای تغذیه کرده از پسته بیش‌ترین و انجیر کم‌ترین مقدار را نشان داد. بیش‌ترین و کم‌ترین فعالیت آنزیم پکتیناز نیز به ترتیب در اثر تغذیه از پسته و کشمش مشاهده شد. طبق نتایج، طول دوره جنینی در رژیم‌های غذایی مختلف یکسان بود. کم‌ترین و بیش‌ترین طول دوره‌های لاروی، شفیرگی و دوره نشوونمای کلی به ترتیب در اثر تغذیه از پسته و کشمش مشاهده شد. طول عمر حشرات کامل ظاهرشده در رژیم غذایی بادام و پسته بیش‌ترین و در کشمش کم‌ترین بود. در بررسی درصد حشرات کامل ظاهر شده، رژیم‌های غذایی بادام و انجیر به ترتیب دارای بیش‌ترین و کم‌ترین مقادیر بودند. به طور کلی، به ترتیب پسته، بادام و گردو رژیم‌های غذایی مطلوبی برای پرورش این آفت هستند و رژیم‌های غذایی بادام زمینی، انجیر و کشمش با وجود این‌که مورد تغذیه این حشره هستند، اما نسبت به سه رژیم غذایی قبلی برای نشوونما و پرورش این حشره مناسب به شمار نمی‌روند.

واژه‌های کلیدی: آلفا- آمیلاز، پروتئین، پکتیناز، شب‌پره هندی، مؤلفه‌های زیستی

۱ و ۲- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و استاد گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۳- استادیار گروه گیاه‌پزشکی، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، کرج، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: shashouri@aeoi.org.ir)

DOI: 10.22067/jpp.2023.79306.1111

مقدمه

شب‌پره هندی (Lepidoptera: Pyralidae) *Plodia interpunctella* (Hübner, 1813) یکی از آفات مهم و شناخته‌شده خشکبار و مواد غذایی انباری مختلف در اکثر نقاط دنیا می‌باشد. لارو این حشره همه‌چیزخوار بوده و توانایی رشد و تولیدمثل روی غلات، میوه‌های خشک، سبزیجات خشک، آجیل، دانه‌های روغنی، شکلات، خوراک دام و محصولات فرآوری شده مختلف را دارد (Mohandass *et al*., 2007). از طرفی این حشره به عنوان میزبان جایگزین در پرورش گونه‌های حشرات مفید شکارگر و پارازیتوئید مختلف هم‌چون *Xylocoris flavipes* (Hemiptera: Anthocoridae)، *Nemeritis canescens* (Hymenoptera: Ichneumonidae) و *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) کاربرد دارد (Wagge, 1978; Ghimire and Press *et al*., 1973; Phillips, 2010; Wang *et al*., 2020).

به طور کلی، شب‌پره هندی در محیط‌های غذایی غنی از کربوهیدرات تغذیه می‌نماید و رشد و نشوونمای آن به شدت به ترکیبات بیوشیمیایی و به‌خصوص کیفیت و کمیت مواد مغذی موجود در ماده غذایی وابسته است. محتوای کربوهیدرات و پروتئین رژیم غذایی باعث ایجاد تغییرات در کارایی تغذیه، رشد و فعالیت آنزیم‌های گوارشی این حشره می‌شود (Borzoui *et al*., 2018). در دستگاه گوارش لاروهای بال‌پولک‌داران، آنزیم‌هایی مانند تریپسین، آمیلاز، پکتیناز، آلفا- و بتا-گلیکوزیداز، آمینوپپتیداز و تریهالاز وجود دارد که توسط سلول‌های روده میانی ترشح می‌شوند (Dow, 1986).

تاثیر رژیم‌های غذایی مختلف و همچنین ارقام مختلف یک گیاه میزبان روی میزان پروتئین، فعالیت آنزیم‌های گوارشی و مولفه‌های زیستی حشرات آفت مختلف مورد مطالعه قرار گرفته است؛ ناصری و همکاران (Naseri *et al*., 2017) بیان نمودند که فعالیت آلفا- آمیلاز گوارشی لاروهای شپشه قرمز آرد *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) پرورش‌یافته روی آرد جو و سورگوم نسبت به لاروهای پرورش‌یافته روی رژیم غذایی مصنوعی بیش‌تر بود. همچنین، طول دوره نشوونمایی مراحل نارس در رژیم سویا از همه طولانی‌تر بود. عبادالهی و برزویی (Ebadollahi and Borzoui, 2019) عنوان کردند که در حشرات کامل سوسک کشیش *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) پرورش‌یافته روی شش رقم مختلف برنج، بیش‌ترین میزان بقای لاروی و شفیرگی، طول عمر حشرات کامل و فعالیت آمیلازی و پروتئازی روی رقم هاشمی و کم‌ترین مقادیر در رقم گوهر مشاهده شد. محمدزاده و همکاران (Mohammadzadeh *et al*., 2020) با بررسی اثر رژیم‌های غذایی مختلف (آرد گندم، جو، جودو سر و ذرت) بر مولفه‌های فیزیولوژیک لاروهای شب‌پره مدیترانه‌ای آرد *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae) گزارش کردند که میزان پروتئین کل بدن لاروها، روده، اجسام چربی و کل بدن شفیره‌ها و همچنین فعالیت آلفا-آمیلاز گوارشی، در رژیم‌های مختلف متفاوت بود. ناصری و همکاران (Naseri *et al*., 2020) طی بررسی روی پاسخ‌های غذایی لاروهای سن پنجم لمبه گندم *Trogoderma granarium* (Coleoptera: Dermestidae) روی ده رقم تجاری برنج، به ترتیب بیش‌ترین میزان فعالیت آمیلولیتیک لاروها را در اثر تغذیه از رقم گیلان و کم‌ترین میزان را در اثر تغذیه از رقم‌های فجر و خزر گزارش کردند. نجات و همکاران (Nejat *et al*., 2020) کم‌ترین میزان پروتئین روده و فعالیت آلفا- آمیلاز و پکتیناز گوارشی لاروهای کرم غوزه پنبه *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) را در مقایسه با رژیم‌های غذایی مصنوعی حاوی پودر لوبیا قرمز، لوبیا سفید و لوبیا چشم بلبلی در اثر تغذیه از رژیم حاوی پودر ذرت مشاهده کردند. طبق نتایج قنبری و همکاران (Ghanbari *et al*., 2022) از بین شش رقم گندم آنتانیوس، نودل، قرمز، سبلان، سرداری و آذر ۲، حشرات کامل سن گندم *Eurygaster integriceps* (Hemiptera: Scutelleridae) تغذیه کرده از رقم سرداری دارای بیش‌ترین مقدار پروتئین در روده و اجسام چربی، و همچنین بیش‌ترین فعالیت آنزیم‌های پروتئاز کل، آلفا- آمیلاز و پکتیناز گوارشی بودند. ورمزیاری و همکاران (Varmazyari *et al*., 2022) نیز اثر رقم‌های مختلف چغندر قند (افسوس، آناکوندا، اگریت و پرمییر) بر میزان پروتئین و فعالیت آلفا- آمیلاز روده‌ای حشرات کامل خرطوم‌بلند چغندر قند *Lixus incanescens* (Coleoptera: Curculionidae) را بررسی و مشاهده کردند که این مولفه‌ها در حشرات کامل تغذیه کرده از رقم‌های مختلف، اختلاف معنی‌داری با هم داشتند و در رقم افسوس و پرمییر به‌ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین مقادیر ثبت شد.

با توجه به زیان اقتصادی شب‌پره هندی بر روی فرآورده‌های انباری مختلف و اهمیت پرورش آن روی مواد غذایی مناسب در جهت تامین میزبان مناسب جهت پرورش حشرات مفید مختلف، در این پژوهش تأثیر رژیم‌های غذایی کشمش، انجیر، پسته، بادام زمینی، بادام و گردو (اصلی‌ترین میزبان‌های این حشره) بر تغییرات میزان پروتئین موجود در روده، فعالیت آنزیم‌های گوارشی آلفا- آمیلاز و پکتیناز، طول دوره مراحل مختلف نشوونمایی و درصد ظهور حشرات کامل این آفت مورد مقایسه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

پرورش حشرات

جهت پرورش شب‌پره هندی از کلنی موجود در دانشگاه تبریز

استفاده شد. تخم‌های حاصل از جفت‌گیری حشرات کامل بـه ظـروف پلاستیکی نیمه شفاف دارای درپوش مجهز به توری منتقل شـدند. در ته این ظروف یک لایه نازک از پسته خام ریخته شد. پس از تکمیـل دوره نشوونما، حشرات کامل ظاهرشده نسل بعدی مجـدد بـه ظـروف تخم‌گیری منتقل شدند. پس از دو نسل خالص‌سازی، حشـرات نسـل سوم روی رژیم‌های غذایی آزمایشی انتقال داده شدند. از شـش رژیـم گردو، بادام‌زمینی، کشمش، پسـته، بـادام و انجیـر بـرای ایـن منظـور استفاده شد. شرایط نگه‌داری و پرورش حشرات، دمای ۲ ± ۲۶ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵ ± ۵۰ درصـد و دوره نـوری ۸:۱۶ سـاعت (روشنایی: تاریکی) در نظر گرفته شد.

تشریح حشرات و تهیه نمونه‌های پروتئینی

برای تهیه نمونه‌های پروتئینی، ابتدا لاروهای سن آخـر شـب‌پـره هندی در زیر استریومیکروسکوپ و درون شیشـه سـاعت حـاوی آب مقطر سرد با استفاده از قیچی میکروجراحی و پنس مخصوص، تشریح شده و کل لوله گوارش جداسازی شد. تعداد ۱۰ عدد لولـه گـوارش در داخل میکروتیوب‌های ۲ میلی‌لیتری حاوی ۳۰۰ میکرولیتر آب مقطـر قرار داده شدند. میکروتیوب‌ها در زمـان جـداسـازی و در تمـام مـدت آزمایش داخل یخ نگـه‌داری شـدند. نمونـه‌هـا بـا اسـتفاده از دسـتگاه همگن‌ساز مدل Ultra-turax T8 (Ika labortechnik®) به مـدت ۲۰ ثانیه همگن گردیدند. مخلوط‌هـای همگـن سـپس بـه مـدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس و با سـرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقـه سانتریفیوژ شدند. در نهایـت، مـایع‌هـای روشـناور بـه عنـوان نمونـه پروتئینی به آرامی با استفاده از سمپلر جداسـازی و بـرای اسـتفاده در آزمایش‌ها به دمای منفی ۲۰ درجه سلسیوس انتقال داده شدند.

تخمین غلظت پروتئین

غلظت پروتئین در نمونه‌های دستگاه گوارش لاروها با اسـتفاده از روش بردفورد (Bradford, 1976) تعیین شد و از آلبومین سرم گاوی به عنوان پروتئین شـاخص در غلظـت‌هـای ۰/۰۳۲، ۰/۰۶۳، ۰/۱۲۵، ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اسـتفاده گردیـد. از هـر نمونـه، ۱۰ میکرولیتر در سه تکـرار در داخـل چاهـک‌هـای میکروپلیـت دسـتگاه جذب‌خوان مدل ELx800™ (BioTek®) ریختـه و ۱۹۰ میکرولیتـر از معرف رنگی بردفورد به چاهک‌ها اضافه شد. پس از ۵ دقیقه میزان جذب نوری در طول موج ۵۹۰ نـانومتر ثبـت شـد. بـا ترسـیم نمـودار استاندارد غلظت پروتئین شاخص و با استفاده از معادلـه خـط راسـت، میزان جذب نوری نمونـه‌هـای آزمایشـی در معادلـه قـرار داده شـد و غلظت پروتئین آن‌ها محاسبه گردید. آزمایش‌ها در پـنج تکـرار انجـام شدند.

الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید واسرشت‌گر

جهت بررسی غلظت و الگوی پروتئینی نمونـه‌هـای تهیـه شـده، الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید احیائی یا واسرشت‌گر (SDS-PAGE) با روش لاملی (Laemmli, 1970) انجام شد. برای این منظور از ژل جداکننده ۱۲ درصد و ژل متراکم‌کننده ۴ درصد به ترتیب با حجم ۲۰ و ۱۰ میلـی‌لیتـر اسـتفاده شـد. قبـل از ریخـتن نمونـه پروتئینـی در چاهک‌های ژل روئی، پروتئین‌ها با قرار داده شدن در دمای ۹۵ درجـه سلسیوس واسرشته شدند. در بافر نمونه از مرکاپتواتانول استفاده شـد. الکتروفورز با ولتاژ ۱۲۰ ولت تا رسیدن نوار رنگی به انتهـای ژل اجـرا شد. ژل به دست آمده با استفاده از معرف رنگی کوماسی بریلنت بلو تا زمانی که آبی تیره شوند (حدود ۲۴ ساعت روی دستگاه تکان‌دهنـده) رنگ‌آمیزی شد. سپس ژل به مدت ۲۴ ساعت دیگر در محلول رنگ-بر روی دستگاه تکان‌دهنده قرار داده شده و تا زمان روشن شدن رنگ زمینه ژل و مشخص شدن نوارهای پروتئینـی بـه رنـگ آبـی، عمـل رنگ‌زدایی ادامه یافت. در نهایت، با استفاده از دستگاه اسـکنر، عمـل تصویربرداری از ژل انجام شـد. وزن مولکـولی نوارهـای پروتئینـی در حضور استاندارد با شـماره کاتـالوگ SL7011 (۱۱-۱۸۰ کیلودالتـون، Sinaclon®) تخمین زده شد.

سنجش فعالیت آنزیمی

سنجش فعالیت آلفا- آمیلازها و پکتینازهای گوارشی با استفاده از روش برنفلد (Bernfeld, 1955) با اندکی تغییر انجام گردید (برگرفته از Hosseininaveh and Ghadamyari, 2013). برای این منظـور، از نشاسته و پکتین یک درصد به ترتیب به عنـوان زیـر نهشـت‌هـای آلفا- آمیلاز و پکتیناز استفاده گردید. برای تهیه آن‌ها از آب مقطـر بـا دمای ۷۰ درجه سلسیوس استفاده شد تا به خوبی در آب حـل شـوند. ترکیـب واکـنش حـاوی ۱۰ میکرولیتـر آنـزیم، ۶۵ میکرولیتـر بـافر گلایسین (۰/۵ مولار با اسیدیته ۱۰) و ۲۵ میکرولیتر زیرنهشـت بـود. در شاهد نیز به جای آنزیم از ۱۰ میکرولیتر بافر گلایسین استفاده شد. مخلوط واکنش به مدت ۳۰ دقیقه در دمـای ۳۷ درجـه سلسـیوس در داخل حمام آب گرم نگه‌داری شد. پس از آن، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از معرف DNS (دی‌نیتروسالسیلیک اسید) به مخلوط حاصل اضافه شـد. سپس مخلوط واکنش آنزیمی مورد نظر به مدت ۱۰ دقیقـه درون آب با دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس قـرار داده شـد. در نهایـت، مقـدار ۱۹۰ میکرولیتر از این ترکیب درون چاهک‌های میکروپلیت دستگاه جذب-خوان ریخته و میزان جذب نـوری در طـول مـوج ۵۴۰ نـانومتر ثبـت گردید. آزمایش مورد نظر در سه تکرار تکنیکی و پـنج تکـرار زیسـتی انجام شد. جهت مقایسه بهتر فعالیت نسبی آنزیم‌ها، فعالیت آن‌هـا بـه صورت درصدی از فعالیت آنزیم در رژیمی کـه بـیش‌تـرین فعالیـت را داشته، محاسبه شد.

سنجش مولفه‌های زیستی

برای اندازه‌گیری مؤلفه‌های زیستی از تشتک‌های پتری پلاستیکی با قطر پنج سانتی‌متر که درب آن‌ها برای انتقال هوا سوراخ و با پارچه توری پوشانده شده بود، استفاده شد. در داخل هر یک از تشتک‌ها ۵ گرم از هر رژیم غذایی و ۱۰ عدد لارو نئونات قرار داده شد. تشتک‌های حاوی حشرات از مرحله تخم تا پایان عمر حشرات کامل به صورت روزانه به طور دقیق مورد بررسی قرار می‌گرفتند. در نهایت، طول مراحل جنینی، لاروی، شفیرگی، حشره کامل و کل دوره نشوونمایی و همچنین درصد حشرات کامل ظاهرشده روی هر یک از رژیم‌های غذایی ثبت گردید. برای هر رژیم غذایی پنج تکرار در نظر گرفته شد.

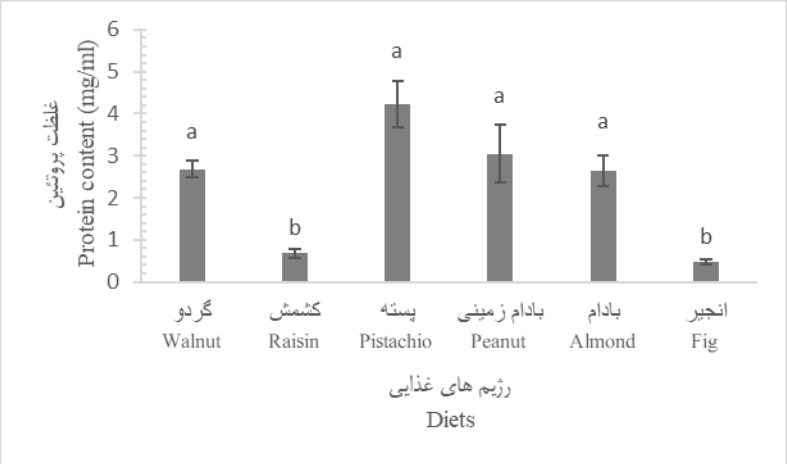
تجزیه آماری داده‌ها

نتایج و داده‌های به دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار Instat3 تجزیه آماری شدند و از طرح کاملا تصادفی (تجزیه واریانس یک طرفه) جهت تجزیه واریانس داده‌ها استفاده شد. نرمال بودن توزیع داده‌ها با آزمون کولموگروف–اسمیرنوف مورد تائید قرار گرفت. گروه‌بندی و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال آماری یک درصد و رسم نمودارها با برنامه Microsoft Excel 2016 انجام شد.

نتایج و بحث

غلظت پروتئین روده

نتایج تجزیه واریانس مربوط به اثر تغذیه از رژیم‌های غذایی مختلف روی میزان پروتئین موجود در روده لاروهای سن آخر شب‌پره هندی اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال آماری ۱٪نشان داد ($F_{5,29}$= 12.922, p< 0.0001). بیش‌ترین مقدار پروتئین به ترتیب در روده لاروهای سن آخر تغذیه کرده از رژیم غذایی پسته ۴/۲۲، بادام زمینی ۳/۰۴، گردو ۲/۶۸ و بادام ۲/۶۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد که با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند. همچنین، کم‌ترین مقدار پروتئین در اثر تغذیه از انجیر و کشمش (به ترتیب ۰/۴۷ و ۰/۶۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) بود که با هم فاقد اختلاف معنی‌دار بودند (شکل ۱).



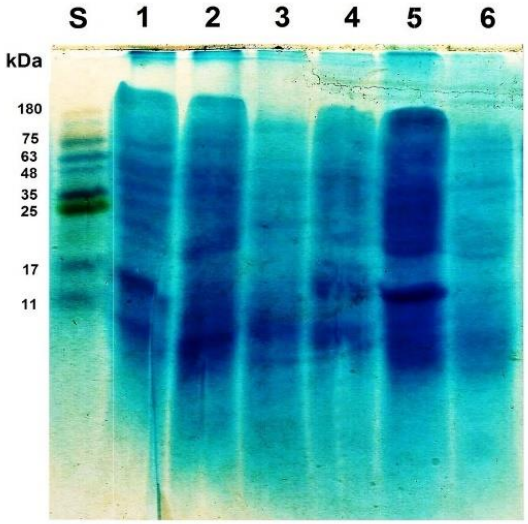
شکل ۱- غلظت پروتئین روده در لاروهای سن آخر شب‌پره هندی *Plodia interpunctella* تغذیه کرده از رژیم‌های غذایی مختلف

حروف غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال آماری ۱٪ در آزمون توکی می‌باشند.

Figure 1-Gut protein concentration in last instars of *Plodia interpunctella* fed on different diets

Different letters on each column indicate a significant difference (p< 0.0001) based on Tukey's test.

تصویر به دست آمده از ژل مربوط به الگوی پروتئینی در روده لاروهای سن آخر در شکل ۲ ارایه شده است. طبق نتایج، نوارهای پروتئینی لاروهای پرورش‌یافته بر روی پسته، بادام زمینی، گردو و بادام (به‌ترتیب ستون‌های شماره ۵، ۲، ۱ و ۴) بیش‌ترین شدت را داشتند و کم‌ترین شدت نیز در نوارهای پروتئینی مربوط به روده لاروهای تغذیه‌کرده از کشمش و انجیر (به‌ترتیب ستون‌های شماره ۳ و ۶) دیده شد. این نتایج با نتایج سنجش غلظت پروتئین به روش بردفورد به طور کامل مطابقت دارد.



شکل ۲- SDS-PAGE پروتئین روده لاروهای سن آخر شب‌پره هندی *Plodia interpunctella* تغذیه کرده از رژیم‌های غذایی مختلف

اعداد ۱، ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶ به‌ترتیب نشان‌گر رژیم‌های غذایی گردو، بادام‌زمینی، کشمش، بادام، پسته و انجیر هستند. ستون سمت چپ که با حرف لاتین S مشخص شده است، مربوط به پروتئین استاندارد بوده و اعداد، وزن مولکولی پروتئین‌ها بر حسب کیلودالتون می‌باشند.

Figure 2- SDS-PAGE of gut protein in last instars of *Plodia interpunctella* fed on different diets

The numbers 1, 2, 3, 4, 5 and 6 indicate the diets of walnut, peanut, raisin, almond, pistachio and fig, respectively. The left column, which is marked with S, corresponds to the standard protein and the molecular weights of the proteins are in kDa.

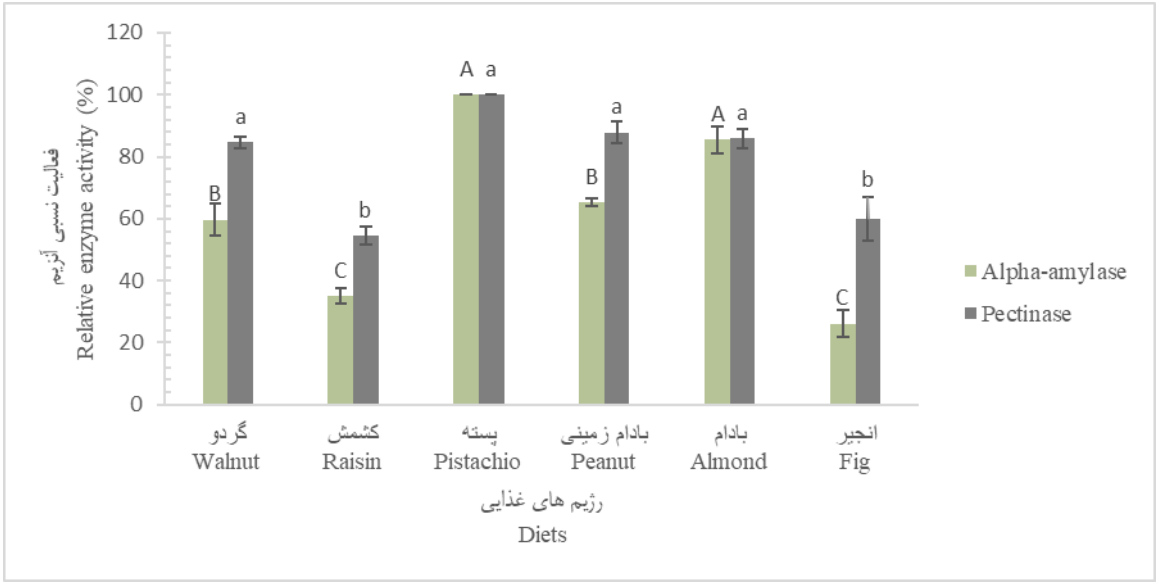
فعالیت نسبی آنزیم‌های آلفا- آمیلاز و پکتیناز گوارشی

طبق نتایج تجزیه واریانس، اثر رژیم‌های غذایی مختلف روی فعالیت آلفا- آمیلاز ($F_{5,29}$= 66.508, p< 0.0001) و پکتیناز ($F_{5,29}$= 22.803, p< 0.0001) روده لاروهای سن آخر شب‌پره هندی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. فعالیت دو آنزیم در رژیم غذایی پسته، که بیش‌ترین میزان را دارا بود، ۱۰۰ درصد محاسبه گردید و فعالیت‌های نسبی آنزیم روده لاروهای تغذیه کرده از سایر رژیم‌ها براساس آن محاسبه شدند. فعالیت نسبی آلفا- آمیلاز در روده لاروهای تغذیه کرده از رژیم غذایی پسته (۱۰۰٪) و لاروهای تغذیه کرده از بادام (۸۵٪) با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند. فعالیت نسبی این آنزیم در روده لارو تغذیه کرده از رژیم‌های غذایی بادام‌زمینی (۶۵٪) و گردو (۶۰٪) کم‌تر از دو رژیم قبلی بود. کم‌ترین میزان فعالیت نسبی در روده لاروهای تغذیه کرده از کشمش (۳۵٪) و انجیر (۲۶٪) مشاهده شد. بیش‌ترین میزان فعالیت نسبی آنزیم پکتیناز در روده لاروهای تغذیه کرده از رژیم غذایی پسته (۱۰۰٪)، بادام زمینی (۸۸٪)، بادام (۸۶٪) و گردو (۸۵٪) دیده شد که اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند. همچنین، کم‌ترین میزان فعالیت این آنزیم در روده لاروهای تغذیه کرده از کشمش (۵۵٪) و انجیر (۶۰٪) بوده که با هم فاقد اختلاف معنی‌دار بودند (شکل ۳).

طول دوره نشوونمایی

نتایج مربوط به طول دوره‌های نشوونمایی شب‌پره هندی پرورش یافته روی رژیم‌های غذایی مختلف در جدول ۱ ارایه شده‌اند. تجزیه واریانس داده‌های دوره نشوونمای جنینی در بین تمامی رژیم‌های غذایی اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($F_{5,29}$= 1.821, p=0.147). میانگین دوره جنینی تخم‌های حاصل از حشرات نشوونما یافته روی رژیم‌های غذایی پسته، بادام، گردو، بادام زمینی، انجیر و کشمش به‌ترتیب ۳/۴، ۴/۸، ۴/۶، ۴/۸، ۵/۲ و ۵ روز (بدون اختلاف معنی‌دار) تعیین شد.

طول دوره لاروی در اثر تغذیه از رژیم‌های غذایی مختلف با هم دیگر اختلاف معنی‌داری داشتند ($F_{5,29}$= 75.833, p< 0.0001). کم‌ترین طول دوره لاروی مربوط به پسته با میانگین ۳۹/۴ روز و بیش‌ترین آن مربوط به کشمش با میانگین ۵۹/۶ روز بود. میانگین طول دوره لاروی بر روی دو رژیم غذایی گردو و بادام به ترتیب ۴۳/۲ و ۴۴/۸ روز و در روی بادام زمینی و انجیر به ترتیب ۵۱/۸ و ۵۳/۶ روز ثبت شد، که جداگانه با سایر رژیم‌ها دارای اختلاف معنی‌دار و با یکدیگر فاقد اختلاف معنی‌دار بودند. کوتاه بودن طول دوره لاروی در پسته نشان‌دهنده مناسب بودن این رژیم غذایی برای نشوونمای سریع‌تر این حشره می‌باشد.



شکل ۳- فعالیت نسبی آنزیم‌های آلفا- آمیلاز و پکتیناز گوارشی لاروهای سن آخر شب‌پره هندی *Plodia interpunctella* تغذیه کرده از رژیم‌های غذایی مختلف

حروف غیر مشابه کوچک و بزرگ روی ستون‌ها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ در آزمون توکی می‌باشند.

Figure 3- Relative activities of gut digestive alpha-amylases and pectinases in last instars of *Plodia interpunctella* fed on different diets

Different lowercase and uppercase letters on each column indicate a significant difference ($p< 0.0001$) based on Tukey's test.

طول دوره شفیرگی در لاروهای پرورش یافته روی رژیم‌های غذایی مختلف با هم دارای اختلاف معنی‌دار بود ($F_{5,29}= 6.482$, $p= 0.0006$). بیش‌ترین طول دوره شفیرگی در پرورش روی کشمش (میانگین ۱۳/۶ روز) و کم‌ترین در پرورش روی پسته (میانگین ۸ روز) مشاهده شد. میانگین طول دوره شفیرگی در رژیم‌های گردو، بادام، انجیر و بادام زمینی به ترتیب ۱۰، ۱۰، ۱۱/۶ و ۱۲ روز ثبت گردید. بین رژیم‌های پسته با بادام‌زمینی، انجیر و کشمش و همچنین گردو و بادام با کشمش اختلاف معنی‌داری وجود داشت. میانگین طول این دوره در سایر رژیم‌ها با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند.

طول عمر حشرات کامل حاصل از لاروهای پرورش یافته روی رژیم‌های غذایی مختلف با هم اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($F_{5,29}= 8.512$, $p< 0.0001$). حشرات کامل به دست آمده از پرورش لاروها روی رژیم‌های غذایی پسته و بادام دارای بیش‌ترین طول عمر (میانگین ۱۰ روز) و روی رژیم غذایی کشمش دارای کم‌ترین طول عمر (میانگین ۶/۴ روز) بودند. همچنین، میانگین طول عمر حشرات کامل پرورش یافته روی رژیم‌های غذایی گردو، انجیر و بادام زمینی به‌ترتیب ۸/۶، ۸/۲ و ۷/۲ روز ثبت شد. در این بررسی، بین طول عمر حشرات حاصل از رژیم‌های غذایی پسته و بادام با بادام زمینی و کشمش، و همچنین گردو با کشمش اختلاف معنی‌داری مشاهده شد.

بین طول کل دوره نشوونمایی شب‌پره هندی بر روی رژیم‌های غذایی مختلف نیز اختلاف معنی‌داری ثبت گردید ($F_{5,29}= 38.687$, $p< 0.0001$). طولانی‌ترین دوره نشوونمایی مربوط به کشمش با میانگین ۸۴/۶ روز و کوتاه‌ترین مربوط به پسته با میانگین ۶۰/۸ روز بود. همچنین، طول این دوره در رژیم‌های غذایی گردو، بادام، بادام-زمینی و انجیر به‌ترتیب ۶۶/۴، ۶۹/۶، ۷۵/۸ و ۸۰ روز ثبت شد. طول دوره نشوونمایی شب‌پره هندی بر روی رژیم پسته با گردو، بادام با گردو و بادام‌زمینی، بادام‌زمینی با انجیر و انجیر با کشمش فاقد اختلاف معنی‌دار، ولی روی سایر رژیم‌های غذایی با یکدیگر دارای اختلاف معنی‌دار بود.

میزان ظهور حشرات کامل

درصد ظهور حشرات کامل در اثر تغذیه لاروها از رژیم‌های غذایی مختلف در سطح احتمال یک درصد دارای اختلاف معنی‌دار بود ($F_{5,29}= 9.017$, $p< 0.0001$). بیش‌ترین درصد ظهور حشرات کامل به ترتیب در اثر پرورش لاروها روی رژیم‌های غذایی بادام، پسته و گردو (به ترتیب ۹۰، ۸۲ و ۷۲ درصد، فاقد اختلاف معنی‌دار با هم) و کم‌ترین میزان آن نیز به ترتیب روی انجیر، بادام‌زمینی و کشمش (به ترتیب ۴۶، ۵۲ و ۵۴ درصد؛ بدون اختلاف معنی‌دار با بادام و پسته) ثبت شد (شکل ۴).

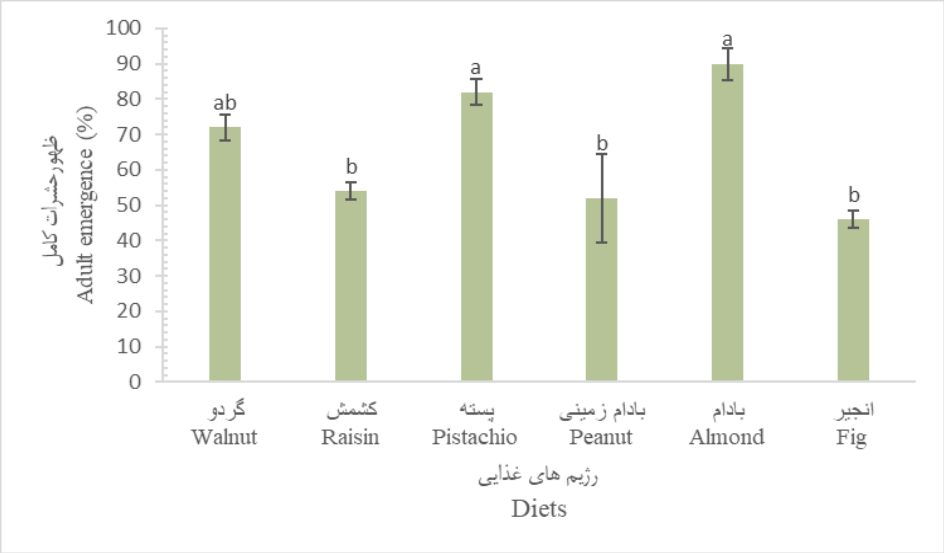
جدول ۱- طول دوره نشوونمایی (روز) شب‌پره هندی *Plodia interpunctella* بر روی رژیم‌های غذایی مختلف

Table 1- Developmental period (days) of *Plodia interpunctella* reared on different diets

مولفه‌ها Parameters	رژیم‌های غذایی Diets					
	گردو Walnut	کشمش Raisin	پسته Pistachio	بادام زمینی Peanut	بادام Almond	انجیر Fig
طول دوره جنینی Incubation period	3.4±0.51 a	4.8±0.63 a	4.6±0.51 a	4.8±0.37 a	5.2±0.37 a	5±0.37 a
طول دوره لاروی Larval period	43.2±1.2 c	59.6±0.51 a	39.4±0.81 d	51.8±0.58 b	44.8±0.73 c	53.6±1.12 b
طول دوره شفیرگی Pupal period	10±1.05 bc	13.6±0.51 a	8±0.55 c	12±0.84 ab	10±0.55 bc	11.6±0.93 ab
طول عمر حشره کامل Adults longevity	8.6±0.93 ab	6.4±0.51 c	10±0.32 a	7.2±0.2 bc	10±0.45 a	8.2±0.2 abc
طول دوره نشوونمایی Developmental period	66.4±1.07 de	84.6±1.4 a	60.8±1.6 e	75.8±1.46 bc	69.6±1.47 cd	80±1.52 ab

حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال آماری ۱٪ در آزمون توکی می‌باشند.

Different letters in each row indicate a significant difference ($p< 0.001$) based on Tukey's test.



شکل ٤- درصد ظهور حشرات کامل شب‌پره هندی *Plodia interpunctella* از لاروهای پرورش‌یافته روی رژیم‌های غذایی مختلف

حروف غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ در آزمون توکی می‌باشد.

Figure 4- *Plodia interpunctella* adult emergence percentage from larvae reared on different diets

Different letters in each column indicate a significant difference ($p< 0.001$) based on Tukey's test.

لاروهای شب‌پره هندی می‌توانند روی تعداد زیادی از منابع غذایی رشد و نشوونما کنند. ترکیب بیوشیمیایی غذا بر فرآیندهای فیزیولوژیک این حشره تاثیر بسیار قابل توجهی دارد (Bouayad *et al.* 2008). به دلیل اهمیت این حشره به عنوان میزبان برای پرورش حشرات مفید، یافتن بهترین ماده غذایی برای پرورش حشره که مولفه‌های فیزیولوژیک و زیستی آن را بهبود بخشد، هدف این مطالعه قرار گرفت. همان‌طور که از نتایج تحقیق حاضر مشخص است، مولفه‌های فیزیولوژیک این حشره تحت تأثیر نوع ماده غذایی قرار گرفت. در بررسی صورت گرفته مشاهده شد که رژیم غذایی بر میزان پروتئین و فعالیت آنزیم‌های آلفا- آمیلاز و پکتیناز گوارشی تاثیر معنی‌داری داشت. برزوئی و همکاران (Borzoui *et al.*, 2018) شب‌پره هندی را روی انجیر خشک، جوانه گندم خشک، توت سفید خشک، بادام زمینی، پسته و کشمش پرورش دادند و مولفه‌های تغذیه‌ای را با رژیم غذایی مصنوعی مقایسه کردند. این محققان تاخیر نشوونمای پیش از بلوغ را در رژیم غذایی کشمش مشاهده نمودند. بیش‌ترین میزان زنده‌مانی لاروها نیز در رژیم غذایی مصنوعی

مشاهده شد. مطابق نتایج آن‌ها، فعالیت آلفا- آمیلاز در لاروهای تغذیه کرده از کشمش، انجیر و توت خشک از سایر رژیم‌های غذایی کم‌تر بود. بوآیاد و همکاران (Bouayad *et al*., 2008) اثر چهار رژیم غذایی آرد گندم، خرما، سورگوم و جو را روی نشوونمای پس‌جنینی شب‌پره هندی بررسی و مشاهده کردند که طول دوره نشوونمایی حشره در رژیم خرما از همه طولانی‌تر بود و کم‌ترین درصد شفیره شدن نیز در اثر پرورش لاروها روی این رژیم دیده شد. همچنین، درصد تلفات لاروی روی رژیم غذایی جو از همه بیش‌تر بود. کوتاه‌ترین دوره لاروی مربوط به رژیم غذایی آرد گندم گزارش گردید، هرچند تعداد کمی از لاروهای مورد آزمایش توانایی تکمیل دوره نشوونمایی خود را داشتند. این پژوهش‌گران گزارش کردند که محتوای پروتئینی، گلوکزی و فعالیت آلفا- آمیلاز لاروی در پرورش بر روی خرما از همه کم‌تر بود.

در تحقیق حاضر، مولفه‌های زیستی از جمله طول دوره‌های لاروی، شفیرگی، نشوونمایی کل و طول عمر حشرات کامل با توجه به نوع رژیم غذایی لاروها تغییراتی را نشان داد. هرچه مطلوبیت یک ماده غذایی برای تغذیه حشره کم‌تر باشد، طول دوره نشوونمایی آن افزایش خواهد یافت. تغذیه لاروها از رژیم‌های غذایی متفاوت تنها روی طول دوره جنینی تخم‌های گذاشته شده توسط حشرات کامل ظاهر شده تاثیری نداشت. مؤمن‌زاده و همکاران (Momenzadeh *et al*. 2014) دوره جنینی، لاروی و شفیرگی شب‌پره هندی را بر روی انجیر و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس، به ترتیب حدود ۳، ۳۵ و ۷ روز اندازه‌گیری کردند. در تحقیق حاضر طول دوره‌های یاد شده در دمای ۲ ± ۲۶ درجه سلسیوس بر روی انجیر به ترتیب حدود ۵، ۵۳ و ۱۱ روز برآورد شد. بصیرت و مهرنژاد (Basirat and Mehrnejad, 2002) میانگین مدت زمان تفریخ تخم‌های شب‌پره هندی بر روی رژیم غذایی پسته را در دمای ۲۷/۵ درجه سلسیوس، ۳/۶ روز گزارش کردند. پوربهی و همکاران (Pourbehi *et al*., 2010) نیز میانگین طول این دوره را روی سه رقم خرما در حدود ۳ روز ثبت کردند. این محققان طول دوره لاروی را روی ارقام خرمای کبکاب، شهابی و زاهدی در دمای ۲۷ درجه سلسیوس به ترتیب حدود ۴۸، ۴۳ و ۳۸ روز، طول دوره شفیرگی را به ترتیب حدود ۷، ۸ و ۷ روز و طول عمر حشرات کامل را نیز به ترتیب ۷، ۸ و ۸ روز گزارش کردند. لوکاتللی و لیمونتا (Locatelli and Limonta, 1998) شب‌پره هندی را روی گندم سیاه دارای پریکارب، گندم سیاه بدون پوست، گندم، آرد کامل گندم و آرد کامل گندم سیاه پرورش دادند. از این بین، رژیم غذایی اول ضعیف‌ترین ماده غذایی گزارش شد به طوری که طول دوره نشوونمایی افزایش و میزان زنده‌مانی کاهش یافت اما در رژیم گندم سیاه پوست‌کنده، درصد ظهور حشرات کامل افزایش یافت. کم‌ترین طول دوره نشوونما در گندم (۳۴ روز) و بیش‌ترین میزان آن در گندم سیاه دارای پریکارب (۸۱ روز) ثبت شد. مرزبان و همکاران (Marzban *et al*., 2001) در رژیم‌های غذایی پسته، گردو و بادام میانگین طول دوره جنینی شب‌پره هندی را ۲/۵ روز تعیین کردند. در لاروهای پرورش یافته روی گردو، بادام و پسته میانگین طول دوره لاروی را به ترتیب در حدود ۳۸، ۷۴ و ۳۱ روز، میانگین دوره شفیرگی را ۸، ۱۵ و ۸ و طول عمر حشرات کامل را ۸، ۹ و ۷ روز برآورد کردند. این نتایج تاحدودی مطابق نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر است و در آن برای پرورش شب‌پره هندی پسته بهتر از همه گزارش شده است. معصومی و همکاران (Masoumi *et al*., 2016) اثرات قابل توجه بازدارندگی گلوکز بر فعالیت آلفا- آمیلاز گوارشی لاروهای شب‌پره هندی را با تغذیه از رژیم‌های غذایی گردو، کشمش، خرما و سنجد بررسی نمودند. فعالیت آلفا- آمیلاز با افزایش میزان گلوکز رژیم غذایی کاهش یافت به طوری که در رژیم‌های کشمش و خرما که نسبت به دو رژیم غذایی دیگر دارای میزان گلوکز بیشتری بودند، کاهش فعالیت این آنزیم مشاهده شد. در لاروهای پرورش یافته روی گردو بیش‌ترین مقدار فعالیت آلفا- آمیلاز مشاهده شد. همچنین، بیان ژن آلفا- آمیلاز در لاروهای تغذیه کرده از گردو (منبع غنی از پلی‌ساکاریدهای پیچیده) از لاروهای تغذیه کرده از خرما (منبع غنی از گلوکز) بیش‌تر بود. نتایج این مطالعه نیز نشان می‌دهند که میزان گلوکز موجود در رژیم غذایی بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی لاروهای سن آخر شب‌پره هندی تاثیر عکس دارد، به‌طوری‌که کم‌ترین میزان فعالیت آنزیم‌ها در روده لاروهای تغذیه کرده از رژیم غذایی انجیر و کشمش دیده شد که نسبت به سایر رژیم‌های غذایی دارای میزان گلوکز بیش‌تری هستند.

نتیجه‌گیری

در این تحقیق که با هدف یافتن بهترین رژیم غذایی برای پرورش شب‌پره هندی انجام شد، رژیم‌های غذایی مورد بررسی که جزو اصلی‌ترین مواد غذایی مورد حمله این حشره محسوب می‌شوند، بر میزان و غلظت پروتئین روده لاروهای سن آخر، فعالیت آنزیم‌های آلفا- آمیلاز و پکتیناز گوارشی و مولفه‌های زیستی شب‌پره هندی تأثیر گذار بودند به طوری که بین رژیم‌های غذایی مورد بررسی اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. به‌طور کلی، برای همه این مولفه‌های فیزیولوژیک و زیستی، در پرورش لاروها روی رژیم پسته بیش‌ترین مقادیر و در روی رژیم غذایی انجیر و کشمش کم‌ترین مقادیر ثبت شدند. با استناد به نتایج این پژوهش می‌توان نتیجه گرفت که جهت پرورش آزمایشگاهی این حشره به ترتیب رژیم‌های غذایی پسته، گردو و بادام نسبت به رژیم‌های بادام زمینی، کشمش و انجیر مواد غذایی مطلوب‌تر و مناسب‌تری می‌باشند و از میان آن‌ها نیز پسته مناسب‌ترین رژیم غذایی برای پرورش این حشره می‌باشد.

منابع

1- Basirat, M., & Mehrnejad, M. (2005). The study of lower threshold temperature and thermal constant for two insect pests of stored nuts *Plodia interpunctella* (Lep.: Pyralidae) and *Apomyelois ceratoniae* (Lep.: Pyralidae). *Journal of Entomological Society of Iran 24*(2): 19-34. (In Persian with English abstract)

2- Bernfeld, P. (1955). Amylases, α and β. *Method Enzymology* 1: 149-158. https://doi.org/10.1016/0076-6879(55)01021-5.

3- Borzoui, E., Bandani, A.R., Goldansaz, S.H., & Talaei-Hassanlouei, R. (2018). Dietary protein and carbohydrate levels affect performance and digestive physiology of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Economic Entomology* 111: 942-949. https://doi.org/10.1093/jee/tox360.

4- Bouayad, N., Rharrabe, K., Ghailani, N., & Sayah, F. (2008). Effects of different food commodities on larval development and α-amylase activity of *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Stored Products Research 44*(4): 373-378. https://doi.org/10.1016/j.jspr.2008.02.012.

5- Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72*:* 248-254. https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3.

6- Dow, J.A.T. (1986). Insect midgut function. *Advances in Insect Physiology* 19: 187-329. https://doi.org/10.1016/S0065-2806(08)60102-2.

7- Ebadollahi, A., & Borzoui, E. (2019). Growth performance and digestive enzymes activity of *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae) feeding on six rice cultivars. *Journal of Stored Products Research* 82: 48-53. https://doi.org/10.1016/j.jspr.2019.04.004.

8- Ghanbari, S., Farshbaf Pourabad, R., & Ashouri, S. (2022). Influence of wheat cultivars on digestive enzyme activity and protein content of the Sunn pest, *Eurygaster integriceps* (Hem.: Scutelleridae). *Journal of Crop Protection* 11(1): 107-119.

9- Ghimire, M.N., & Phillips, T.W. (2010). Mass rearing of *Habrobracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae) on larvae of the Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae): effects of host density, parasitoid density, and rearing containers. *Journal of Stored Products Research 46*(4): 214-220. https://doi.org/10.1016/j.jspr.2010.05.003.

10- Hosseininaveh, V., & Ghadamyari, M. **(**2013). *Principles and Concepts of Experimental Methods in Insect Biochemistry, Physiology and Toxicology.* University of Tehran Press. 577 pp. (In Persian)

11- Laemmli, U.K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685. https://doi.org/10.1038/227680a0.

12- Locatelli, D.P., & Limonta, L. (1998). Development of *Ephestia kuehniella*, *Plodia interpunctella* and *Corcyra cephalonia* (Lepidoptera; Pyralidae) on kernels and whole meal flours of *Fagoyrum esculentum* and *Triticum aestivum* L. *Journal of Stored Products Research* 34: 29-276. https://doi.org/10.1016/S0022-474X(98)00008-3.

13- Marzban, R., Bayat-Asadi, H., & Mirmoaedi, A. (2001). Comparative assessment of some biological characteristics of Indian meal moth *Plodia interpunctella* Hb. (Lep.: Pyralidae) on pistachio, walnut and almond in laboratory. *Journal of Entomological Society of Iran 20*(2): 71-79. (In Persian with English abstract)

14- Masoumi, P., Farshbaf Pourabad, R., Mohammadi, S.A., & Khakvar, R. (2016). Effect of four different nutrition regimes on the alpha-amylase gene expression in the Indian moth, *Plodia interpunctella*. *In Annales de la Société entomologique de France (NS) 52*(2): 65-70. https://doi.org/10.1080/00379271.2016.1175965.

15- Mohammadzadeh, V., Farshbaf Pourabad, R., Ashouri, S., & Hosseini, N. (2020). Impact of four diets on pupal and larval total protein and digestive α-amylase activity in *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Crop Protection 9*(4): 615-624.

16- Mohandass, S., Arthur, F.H., Zhu, K.Y., & Throne, J.E. (2007). Biology and management of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) in stored products. *Journal of Stored Products Research 43*(3): 302-311. https://doi.org/10.1016/j.jspr.2006.08.002.

17- Momenzadeh, S., Hesami, S., & Gheibi, M. (2014). Biological characteristics of the *Plodia interpunctella* (Lep.: Pyralidae) on dried fig at different temperatures in laboratory conditions. *Journal of Novel Researches on Plant Protection 6*(1): 39-29. (In Persian with English abstract)

18- Naseri, B., Borzoui, E., Majd, S., & Mansouri, S. (2017). Influence of different food commodities on life history, feeding efficiency, and digestive enzymatic activity of *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Economic Entomology 110*(5): 2263-2268. https://doi.org/10.1093/jee/tox236.

19- Naseri, B., Aeinehchi, P., & Ashjerdi, A.R. (2020). Nutritional responses and digestive enzymatic profile of *Trogoderma granarium* Everts (Coleoptera: Dermestidae) on 10 commercial rice cultivars. *Journal of Stored Products Research* 87: 101591. https://doi.org/10.1016/j.jspr.2020.101591.

20- Nejat, S.S., Farshbaf Pourabad, R., & Ashouri, S. (2020). Impact of different diets on some biological and

physiological parameters in the *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuide). *Journal of Applied Research in Plant Protection 9*(2): 61-74. (In Persian with English abstract)

21- Press, J.W., Flaherty, B.R., Davis, R., & Arbogast, R.T. (1973). Development of *Xylocoris flavipes* (Hemiptera: Anthocoridae) on eggs of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Phycitidae) killed by gamma radiation or by freezing. *Environmental Entomology 2*(3): 335-336. https://doi.org/10.1093/ee/2.3.335.

22- Pourbehi, H., Talebi, A., Zamany, A., Goldasteh, S., & Farrar, N. (2010). Comparison of the biological characteristics of the *Plodia interpunctella* Hubner (Lep., Pyralidae) on three date cultivars in laboratory conditions. *IAU Entomological Research Journal 1*(4): 279-288. (In Persian with English abstract)

23- Varmazyari, A., Farshbaf Pourabad, R., & Ashouri, S. (2022). Effect of feeding from different sugar beet cultivars on *Lixus incanescens* adults gut protein content and α-amylase activity, and the enzyme inhibition by triticale and rye protein extracts. *Journal of Applied Research in Plant Protection 11*(3): 41-50. (In Persian with English abstract)

24- Wagge, J.K. (1978). Arrestment responses of the parasitoid, *Nemeritis canescens*, to a contact chemical produced by its host, *Plodia interpunctella*. *Physiological Entomology 3*(2): 135-146. https://doi.org/10.1111/j.1365-3032.1978.tb00143.x.

25- Wang, Z., Cai, W., Wang, W., Zhao, J., Li, Y., Zou, Y., Elgizawy, K.K., & Hua, H. (2020). Assessing the effects of Cry2Aa protein on *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 194: 110380. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110380.