

وزارت جهاد کشاورزی

سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی فارس

اندازه گیری نرخ تنفس با یک روش ارزان با دقت مناسب



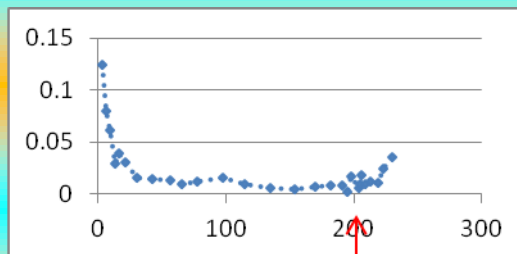
نگارش: دکتر مرتضی الهیاری

عضو هیئت علمی بخش تحقیقات گیاهپزشکی

مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی فارس

این نشریه در تاریخ ۹۴/۴/۸ به شماره ۴۷۳۵۲ در مرکز اطلاعات و مدارک علمی کشاورزی به ثبت رسیده است.

رفت. در این آزمایش روشن شد که نزدیک به ۲۰۰ روز، دوره دیپوز این حشره به طول می انجامد، درحقیقت دیپوز سن نوعی تابستان گذرانی است و در اوایل زمستان دیپوز به پایان می رسد.



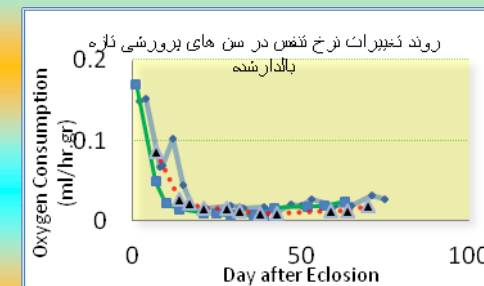
از این روش برای اندازه گیری نرخ متابولیسم حشرات مختلف می توان استفاده نمود ولی نکته این است که حشره بایستی بدون حرکت باشد تا بتوان نرخ متابولیسم پایه را اندازه گیری کرد. در این آزمایش ها روشن شد که اگر سن گندم در درون سرنگ کو چک ترین حرکتی انجام دهد (دست و پا و یا شاخک خود را تکان دهد و یا کمی حرکت کند) دستگاه میزان افزایش تنفس را به خوبی نشان می دهد. بنابراین این دستگاه از دقت کافی در این مورد برخوردار است. هم چنین میزان تنفس شفیره های کرم گلوگاه انار به خوبی قابل اندازه گیری است. ممکن است بتوان با این روش میزان تنفس بذرها را نیز اندازه گیری کرد و مشخص نمود چند درصد از این بذرها در حال استراحت هستند.

با کم کردن حجم سرنگ بر حساسیت اندازه گیری اضافه خواهد شد بنابراین ممکن است بتوان نرخ تنفس حشرات کوچک تر را نیز اندازه گیری نمود. از محدودیت های این دستگاه می توان به کند بودن آزمایش اشاره کرد. اندازه گیری نرخ تنفس یک حشره حداقل ۵۰ دقیقه به طول می انجامد زیرا در هوا مقداری گاز دی اکسیدکربن وجود دارد و در نیم ساعت اول بخشی از نرخ کاهش فشار مربوط به جذب این گاز است ولی از این زمان به بعد می توان مطمئن بود که نرخ کاهش فشار مربوط به دی اکسیدکربن تولید شده توسط حشره است.



اندازه گیری نرخ تنفس سن گندم در طول دوره دیپوز

در سن های تازه بال دار شده نخست نرخ متابولیسم زیاد و بین ۱۰۰ تا ۱۷۰ $\mu\text{l/hr.gr}$ اکسیژن مصرف نمودند. ولی این روند کم کم کاهش یافته و در مدت ۲۰ تا ۳۰ روز به پایین ترین حد خود یعنی حدود ۱۰ $\mu\text{l/hr.gr}$ رسید. این ۲۰ تا ۳۰ روز اول را می توان دوره "پیش دیپوز" یا "آماده شدن برای شروع دیپوز" نامید. زمانی که میزان مصرف اکسیژن به کمینه می رسد درحقیقت مرحله اصلی دیپوز آغاز شده است.

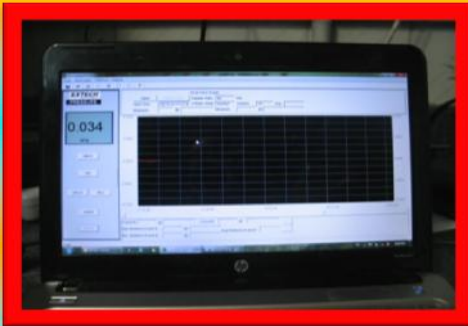


با گذشت زمان سن گندم مراحل مختلف دیپوز را پیموده و با نزدیک شدن به پایان دوره دیپوز دوباره میزان مصرف اکسیژن بالا



دستگاه توسط یک کابل ویژه به کامپیوتر که برنامه ی دیتالاگر روی آن نصب شده متصل می شود.

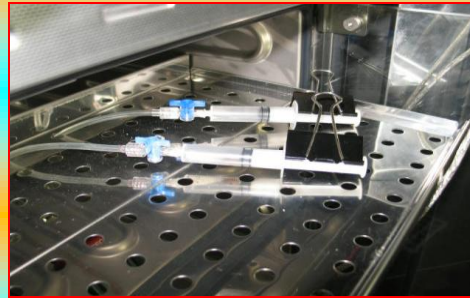
در هر سرنگ یک میکروتیوب به حجم ۰/۲۵ میلی لیتر شامل هیدروکسیدپتاسیم (۱۰٪) که یک کاغذ صافی تاخوردی بصورت آکاردئونی در درون آن قرار داده شده گذاشته می شود. سر میکروتیوب جدا شده، به گونه ای که محلول هیدروکسید پتاسیم با هوای درون سرنگ در تماس باشد. این میکروتیوب گاز دی اکسید کربن و بخار آب را به خود جذب خواهد کرد.



در سرنگ سمت چپ یک حشره (سن گندم) قرار داده شده و پیستون سرنگ در جای خود قرار داده می شود. با استفاده از دو گیره ی کاغذ حجم داخلی سرنگ تنظیم می شود.

فشار هوا و غلظت اکسیژن هوا با یک دستگاه فشارسنج و اکسیژن سنج در آغاز هر آزمایش بایستی اندازه گیری شود.

نحوه ی راه اندازی و اتصالات



دو لوله از جنس تایگون (از متعلقات دستگاه فشارسنج تفاضلی) به فشارسنج متصل و به هر لوله یک شیر سه طرفه وصل می شود و به خروجی دیگر هر شیر یک سرنگ شفاف (که حشره درون آن قابل دیدن باشد) به حجم ۵ میلی لیتر اضافه شود.

محل اتصال شیر به لوله و شیر به سرنگ بایستی با پیچیدن نوار پارافیلیم به طور کامل آب بندی شود. این مجموعه را بایستی در یک انکوباتور دقیق با دقت ± 0.1 درجه ی سلسیوس قرار داد.

تغییرهای فشار هوای درون ظرف با یک فشارسنج تفاضلی اندازه گیری و ثبت می شود. رابطه ی زیر نحوه ی محاسبه ی میزان مصرف اکسیژن را با دست داشتن تغییر فشار در واحد زمان نشان می دهد:

$$\mu\text{L O}_2 = [\text{Vc}(\Delta\text{p})(\text{Fio}_2)]/[\text{BP}(1 - \text{Fio}_2)]$$

که در آن Vc حجم ظرف دربرگیرنده ی حشره، ΔP تغییرات فشار در یک ساعت بر حسب پاسکال، Fio_2 نسبت گاز اکسیژن در هوا و BP فشار هوا بر حسب پاسکال است. برای محاسبه ی میزان مصرف اکسیژن توسط حشره، افزون بر میزان تغییر فشار در دقیقه بر حسب پاسکال، فشار جو با یک دستگاه فشارسنج بر حسب پاسکال، حجم هوای موجود در محفظه ی حاوی سن، نسبت گاز اکسیژن در هوا توسط یک دستگاه اکسیژن سنج LUTRON-Do 5510 و وزن حشره بر حسب میلی گرم اندازه گیری و ثبت شد.

اندازه گیری مقدار اکسیژن مصرف شده توسط یک موجود زنده نشانگر میزان نرخ تنفس سلولی است که در میتوکندری سلول ها صورت می پذیرد و درحقیقت نشان دهنده ی میزان فعالیت سلول است. سطح فعالیت متابولیک موجودات پر سلولی در دوره های مختلف زندگی متفاوت است و عوامل محیطی در میزان این فعالیت اثرگذارند. بذرها در حال استراحت فعالیت متابولیک بسیار کم تری نسبت به بذره های آماده ی رشدونمو دارند. مجموعه ای از عوامل ژنتیکی و محیطی تعیین کننده ی میزان فعالیت متابولیک یک موجود هستند. میوه هایی که سطح فعالیت متابولیک آن ها بالا است زودتر رسیده شده و قابلیت نگه داری کم تری دارند. حشره ها در برابر شرایط سخت محیطی مانند سرما، گرما و نبود میزبان و غذا، سطح فعالیت متابولیک خود را به شدت کم کرده و در حالتی به نام دیابوز به زندگی خود ادامه می دهند. سن گندم که از آفت های مهم این محصول است، ۹ ماه از سال را در حالت استراحت (دیابوز) به سر می برد. افزایش و یا کاهش نرخ تنفس در اثر تغییر های شرایط محیطی، در زنده مانی و مرگومیر این حشره کارساز است.

امروزه برای اندازه گیری نرخ تنفس سلولی از دستگاه های اندازه گیری غلظت گازهای اکسیژن و دی اکسید کربن استفاده می شود که گران قیمت هستند (۴۰ تا ۷۰ میلیون تومان). در این مطالعه امکان استفاده از ی ک روش ساده و ارزان قیمت برای اندازه گیری میزان تنفس سلولی در حشره ها مورد بررسی قرار گرفت.

اندازه گیری میزان اکسیژن مصرف شده در این روش، بر اساس پایش تغییرهای فشار هوا در یک ظرف سرپسته ی دربرگیرنده ی حشره صورت می گیرد. حشره اکسیژن موجود در ظرف را مصرف ک رده و گاز دی اکسید کربن و بخار آب را به فضای ظرف اضافه می کند. یک جاذب دی اکسید کربن و آب مانند هیدروکسید پتاسیم این دو مولکول را جذب کرده و در نتیجه در اثر فعالیت متابولیک حشره، فشار هوای درون ظرف رفته رفته کاهش پیدا خواهد کرد.