اثر متقابل لوبیای سیاه – کنه‌ی دولکه‌ای– کنه‌ی شکارگر *Phytoseiulus persimilis*

احمد بوچانی[۱]، زهرا طهماسبی[۲*] و هلن محمدی[۳]

۱- دانش آموخته ارشد اصلاح نباتات، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام.
۲- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام.
۳- مربی گروه گیاهپزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران.
*مسئول مکاتبه Email: ztahmasebi@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۳/۹/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۵/۲/۵

چکیده

کنه‌ی تارتن دولکه‌ای *Tetranychus urticae* Koch بعنوان یکی از مهم‌ترین آفات مزارع لوبیا در بسیاری از مناطق ایران و جهان خسارت های زیادی به این محصول وارد می‌کند. ژنوتیپ‌های لوبیا سیاه *Phaseolus vulgaris* L. مقاومت بالایی به آفات و بیماری‌های مهم آنها دارند. گیاهان علاوه بر دفاع مستقیم در برابر آفات، به طور غیرمستقیم با جلب دشمنان طبیعی گیاهخواران از خود دفاع می‌کنند. با توجه به اینکه تاکنون دفاع مستقیم و غیرمستقیم ژنوتیپ‌های لوبیای سیاه در برابر کنه‌ی تارتن دولکه‌ای مطالعه نشده است، در این تحقیق ابتدا در گلخانه مقاومت شش ژنوتیپ لوبیا سیاه به کنه‌ی تارتن دولکه‌ای بررسی شد، سپس میزان جلب کنه‌ی شکارگر *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot در ژنوتیپ‌های لوبیا سیاه با کمک آزمون بوسنجی بررسی شد. نتایج آزمایش‌های گلخانه‌ای نشان داد که کلیه ژنوتیپ‌های لوبیا سیاه بررسی شده در این تحقیق به کنه‌ی تارتن دولکه‌ای مقاوم بودند. نتایج بوسنجی نیز حاکی از آن بود که دو ژنوتیپ لوبیای سیاه (KS۱۱۵۷ و KS۱۱۷۹) علاوه بر آنکه مقاومت بالایی به کنه‌ی تارتن دولکه‌ای داشتند، کنه‌ی شکارگر را هم بهتر از بقیه ژنوتیپ‌ها جلب نمودند، ولی این امر در همه ژنوتیپ‌های لوبیا سیاه مشاهده نشد. بنابراین می‌توان ژنوتیپ‌های کم‌تر خسارت دیده KS۱۱۵۷ و KS۱۱۷۹ را با کنه‌ی شکارگر تلفیق کرد و از آنها در برنامه های کنترل تلفیقی با آفت استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: آزمون بوسنجی، دفاع مستقیم، دفاع غیرمستقیم.

مقدمه

کنه‌های خانواده‌ی Tetranychidae که به کنه‌های تارتن معروف هستند، تعداد زیادی از کنه‌های گیاه‌خوار را در بر می‌گیرد. تا به امروز، مهم‌ترین گونه‌ی کنه‌های تارتن در گلخانه ها، کنه‌ی تارتن دولکه‌ای با نام علمی *Tetranychus urticae* Koch می‌باشد (احمدی و همکاران، ۱۳۸۳) که یکی از مهم‌ترین آفات لوبیا در ایران و جهان بوده و موجب خسارت‌های قابل توجهی می‌شود (سعیدی و اربابی، ۱۳۸٦).

استفاده از ارقام اصلاح شده و مقاوم به آفات و بیماری‌ها ،یکی از عملی‌ترین، اقتصادی‌ترین و پذیرفته ترین راهبردهای مدیریت آفات و بیماری‌ها برای اکثریت تولیدکنندگان لوبیا در کشورهای در حال توسعه است. طبق اطلاعات موجود، ژنوتیپ‌های لوبیا سیاه مقاومت بالایی به آفات و بیماری‌ها از خود نشان میدهند. مطالعات متعددی در ایران و جهان انجام شده است که نتایج این تحقیقات نشاندهنده مقاومت بالای لوبیای سیاه به آفات و بیماری های مهم لوبیا می باشد (طهماسبی و همکاران، ۱۳۸۹; مک فارلین و ریمن

،۱۹۸۳; کمبل و بریت، ۱۹۸٦، منزز و دیانز ،۱۹۸۸و جارا و همکاران، ۱۹۹۱).

یکی از اجزای مهم ژنوتیپ‌های لوبیا سیاه که موجب مقاومت آن‌ها به آفات و بیماری‌ها می‌شود، تانن است. تانن‌ها جزء متابولیت‌های ثانویه ساخته شده توسط لوبیا هستند که ۱۰-۵ درصد وزن خشک برگ را تشکیل داده و مقدار و کیفیت آن‌ها روی فعالیت‌های بیوشیمیایی گیاه اثر دارد. تانن‌ها می‌توانند از برگ‌ها در مقابل حشرات گیاه‌خوار با ممانعت از آنها یا مسموم کردن آنها دفاع کنند (باربین و کانستیبل، ۲۰۱۱). کاهش غلظت تانن ممکن است باعث بهبود کیفیت غذایی لوبیای معمولی شود، اما تانن‌ها در مقاومت به حشرات و بیماری ها نقش دارند. به طور متوسط عصاره‌ی استخراج شده از پوسته‌ی لوبیا سیاه و قرمز به ترتیب با ۰/۱۲۹ گرم و ۰/۱۲٤ گرم در یک گرم پوسته بذر و بالاترین مقدار تانن را در بین سایر انواع لوبیا دارا می باشد (ایسلام، ۲۰۰۳).

لوبیا همچون دیگر گیاهان، روش‌های دفاعی مختلفی را در برابر آفات به کار می‌بندد. این روش‌های دفاعی به دو گروه اصلی تقسیم می‌شوند. یکی از این دو روش، دفاع مستقیم می‌باشد. در این روش گیاه با استفاده از سدهای فیزیکی و شیمیایی خود مستقیما بر روی زیست‌شناسی و باروری آفت تاثیر منفی می‌گذارد. روش دیگر، دفاع غیرمستقیم است که با جلب دشمنان طبیعی به منظور کاهش جمعیت آفت عمل می‌کند (آریمورا و همکاران، ۲۰۰۵). به نظر می‌رسد با ارزیابی درجه‌ی مقاومت ژنوتیپ‌های گیاهی به آفات و شناسایی مقاوم‌ترین و حساس‌ترین ژنوتیپ‌ها، می‌توان تعدادی از ژنوتیپ‌های با یک حد بالا و پایین از دفاع مستقیم را شناسایی کرد و سپس با تعیین مقدار و نوع ترکیبات فرار ترشح شده توسط آنها و میزان تاثیر این ترکیبات بر جلب دشمنان طبیعی آفات، رابطه‌ای را بین دفاع مستقیم و غیرمستقیم گیاه پیدا کرد.

کنه‌ی شکارگر *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae) شکارگر اختصاصی کنه‌های تارتن جنس *Tetranychus* می‌باشد. این کنه‌ی شکارگر اولین بار در سال ۱۹۵۷ از روی رزهای پرورشی در گلخانه‌های الجزایر یافت شد. این شکارگر هم اکنون در سراسر جهان برای کنترل کنه‌های تارتن *Tetranychus* روی گیاهان مختلف به ویژه در گلخانه ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. اما کنترل در دماهای خیلی بالا و رطوبت پایین ناموفق می‌باشد (زانگ، ۲۰۰۳). به کارگیری به منظور کنترل کنه‌های تارتن *Tetranychus* چه در گلخانه و چه در شرایط طبیعی و صحرائی امروزه جنبه کاملا عملی به خود گرفته است. این شکارگر در سال ۱۳٦۷ به منظور بررسی امکان به کارگیری کنه‌ی شکارگر علیه کنه دولکه ای در مزارع پنبه، سویا و سایر گیاهان زراعی و گلخانه ای، از طریق بخش حشره‌شناسی دانشگاه کشاورزی واگنیگن هلند به ایران وارد شد (دانشور و قلیچ آبائی، ۱۳۷۲). با گذشت بیش از ۲۵ سال از ورود آن به ایران، مطالعات محدودی برای بررسی امکان استفاده ازاین کنه‌ی شکارگر غیر بومی در کنترل کنه دولکه ای در ایران صورت گرفته است، به عنوان مثال می‌توان به مطالعات دانشور و قلیچ آبائی (۱۳۷۲) لک و اربابی، (۱۳۷۷) و، سعیدی (۱۳۸۱)، که نتایج مثبتی در پی داشته است، اشاره نمود.

با توجه به بررسی‌های صورت گرفته، چون واکنش ارقام لوبیا سیاه به کنه‌ی تارتن دولکه‌ای تاکنون مورد مطالعه قرار نگرفته است، در این تحقیق سعی گردید که واکنش ژنوتیپ‌های لوبیا سیاه از نظر مقاومت به کنه‌ی تارتن دولکه‌ای و میزان جلب کنه‌ی شکارگر به طرف خود بررسی شود. به عبارت دیگر آیا بین ژنوتیپ‌های لوبیا سیاه از نظر مقاومت به کنه تارتن دولکه ای اختلافی وجود دارد و آیا ژنوتیپ‌های مقاوم لوبیای سیاه به کنه تارتن دولکه‌ای میتوانند کنه شکارگر

P. persimilis را بیش از ژنوتیپ‌های حساس جلب کنند یا خیر؟

مواد و روش‌ها

آزمون‌های ارزیابی مقاومت

به منظور ارزیابی مقاومت گیاهچه‌ای ژنوتیپ‌های لوبیای سیاه (*Phaseolus vulgaris* L.) به کنه‌ی تارتن دولکه‌ای، شش ژنوتیپ لوبیا سیاه (KS۱۱۱۵، KS۱۱۵۷، KS۱۱۷۷، KS۱۱۷۹، KS۱۱۸۳ و KS۱۱۹۰) به همراه یک ژنوتیپ لوبیا سفید (KS٤١١٢٨) (شاهد فاقد تانن) و یک ژنوتیپ لوبیا قرمز (خمین) (شاهد حساس به کنه‌ی تارتن دولکه‌ای (طهماسبی و همکاران، ۲۰۱٤)، که بذور آنها از بانک ژن دانشگاه تهران دریافت شده بود، در قالب طرح کاملا تصادفی در پنج تکرار، در زمستان ۱۳۹۰ درگلخانه‌ی گروه علوم باغبانی دانشگاه ایلام دردمای ۳٤-۲۲ درجه‌ی سلسیوس و رطوبت نسبی ۷۰-٤۰ درصد، در داخل گلدان کشت شدند و سپس از نظر مقاومت به کنه‌ی تارتن دولکه‌ای مورد ارزیابی قرار گرفتند. لازم به ذکر است که به دلیل از بین رفتن تعدادی از گیاهان کاشته شده در طی مراحل آزمایش، تعداد تکرار نهایی بعضی از ژنوتیپ‌ها کمتر از پنج بود.

آلوده‌سازی گیاهان گلدانی به کنه‌ی تارتن دولکه‌ای در مرحله‌ی دوبرگی (۳-۲ هفته بعد از کاشت) صورت گرفت. به منظور آلوده‌سازی گیاهچه‌ها از کلنی کنه‌ی تارتن دولکه‌ای که روی گیاه لوبیا (رقم درخشان) در همان شرایط ذکر شده در بالا نگهداری می‌شد، استفاده گردید. کنه‌های مورد استفاده برای آلوده‌سازی ژنوتیپ‌ها، ماده‌های بالغ همسن بودند. به منظور هم سن سازی، تعداد ۱۰-۸ کنه‌ی ماده‌ی بالغ، از کلنی جدا و به مدت ۲٤ ساعت روی یک برگ لوبیا (رقم درخشان) در ظرف پتری دیش قرار گرفتند. ماده‌های بالغ پس از تخمریزی حذف و تخم‌ها حدود ۱۰ روز در اتاقک رشد و در دمای ۱ ± ۲۵ درجه‌ی سلسیوس و رطوبت نسبی ۱۰±٦۰ درصد نگهداری تا تفریخ شدند سپس تا رسیدن به مرحله‌ی بلوغ نگهداری شدند. آنگاه گیاهان موردآزمایش با ۵۰ کنه‌ی ماده‌ی بالغ هم‌سن که روی هر برگ گذاشته شد، آلوده گردیدند. دو هفته (معادل یک دوره زندگی کنه از تخم تا بلوغ) بعد از آلودگی، تعداد کنه‌ی ماده‌ی بالغ و نیز تخم آن‌ها در سطوح رویی و زیرین تمام برگ‌های جدا شده از هر گلدان با استفاده از میکروسکوپ تشریحی شمارش شدند (بینوم و همکاران، a ۲۰۰٤). همچنین میزان خسارت وارد شده به هر گیاه با یک مقیاس آلودگی به کنه‌ی تارتن دولکه‌ای صفر تا چهار (۰: عدم وجود کنه‌ی دولکه‌ای روی گیاه (مقاوم)، ۱: وجود یک یا تعداد کمی کنه روی برگ (مقاوم)، ۲: وجود گروه کوچکی از کنه‌ی دولکه‌ای همراه با مقدار کمی خسارت برگ (نیمه مقاوم)، ۳: گروه‌های کنه همراه با خسارت برگ و میزان کمی تار(حساس)، ٤: جمعیت بالای کنه همراه با خسارت شدید و میزان زیادی تار(حساس)) تعیین شد (فرناندزمونز و همکاران، ۲۰۰۰). پس از جمع‌آوری داده‌ها، میانگین تعداد کل کنه‌ی ماده‌ی بالغ و تخم محاسبه و به دلیل غیر نرمال بودن داده های حاصل، از تبدیل داده به صورت $\log (x+1)$ (لبانوسکا، ۲۰۰۷) استفاده شد که در اینجا x تعداد کنه‌ی ماده‌ی بالغ یا تعداد تخم می‌باشد. در نهایت تجزیه‌ی واریانس و مقایسه‌ی میانگین به روش LSD در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (رویه PROC GLM) انجام شد .

همچنین تعداد کنه‌ی ماده‌ی بالغ و تخم در هر ژنوتیپ به صورت درصد نسبت به ژنوتیپ حساس به کنه‌ی تارتن دولکه‌ای (خمین) (طهماسبی و همکاران، ۲۰۱٤)، محاسبه گردید (شانکز و همکاران، ۱۹۹۵).

آزمون ترجیح میزبانی کنه‌ی شکارگر با استفاده از دستگاه بوسنج[1]

به دلیل نبود امکانات لازم در دانشگاه ایلام، این بخش از آزمایش در آزمایشگاه رفتارشناسی گروه گیاه‌پزشکی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران انجام شد. بذور ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس در شرایط گلخانه‌ای در ۱۰ گلدان کشت شده و دو تا سه هفته بعد (در مرحله دو برگی) نیمی از گلدان‌های هر ژنوتیپ با ۵۰ کنه‌ی ماده‌ی بالغ در هر برگ آلوده شدند. لازم به ذکر است شرایط کشت و نگهداری ژنوتیپ های لوبیا و پرورش کنه تارتن دولکه ای مشابه آزمایش قبل بود. در این آزمایش از کنه‌های ماده‌ی بالغ هم‌سن شکارگر *P. persimilis* استفاده شد. به منظور هم سن‌سازی از دو ظرف جا تخم مرغی ۱۰ خانه‌ای استفاده شد. در هر خانه یک قطعه ۳ ×۳ سانتیمتر برگ لوبیا (رقم درخشان) با آلودگی بالا به کنه‌ی دولکه‌ای قرار داده شد و پنج کنه‌ی ماده‌ی بالغ شکارگر (آماده‌ی تخم‌گذاری) که از هلند (شرکت کوپرت) خریداری شده بودند و در دمای ۱± ۲۳ درجه‌ی سلسیوس و رطوبت نسبی ۷۰-۵۰ درصد داخل اتاقک رشد روی برگ های لوبیای آلوده به کنه‌ی تارتن دولکه‌ای نگه‌داری می‌شدند، روی آن گذاشته شد بعد از ۲٤ ساعت، ماده‌ها حذف و تخم‌ها حفظ شدند. یک هفته پس از تخم‌گذاری، ماده‌های بالغ جدا و برای آزمون بوسنجی آماده شدند (تمامی مراحل پرورش کنه‌ی شکارگر بالغ هم سن در انکوباتور مذکور انجام شد). در طول این مدت شکارگرها با کنه‌های تارتن دولکه‌ای موجود در یک برگ لوبیای آلوده به این کنه که روزانه روی کلنی جدید آنها گذاشته می‌شد، تغذیه می‌شدند. لازم به ذکر است که قبل از انجام هر آزمایش، به مدت ۲٤ ساعت ماده‌های بالغ شکارگر گرسنه نگهداشته می‌شد (دبوئر و همکاران، ۲۰۰٤).

برای انجام این آزمایش از دستگاه بوسنج و بر اساس روش دیکه و همکاران (۱۹۹۰b) استفاده شد. در این روش، ابتدا جریان هوای موجود در هر دو بازوی دستگاه بر روی ۰/۵ m/s تنظیم شده و سپس در محفظه موجود در یکی از بازوهای لوله Y شکل، یک گلدان سالم از یکی از ژنوتیپ‌ها و در محفظه متصل به بازوی دوم، یک گیاه آلوده به کنه‌ی تارتن دولکه‌ای از همان ژنوتیپ قرار داده می‌شد. سپس در بازوی سوم لوله Y شکل یک کنه‌ی شکارگر قرار می‌گرفت و اجازه داده می‌شد که روی سیم وسط لوله حرکت کند. کنه‌ی شکارگر پس از رسیدن به دو راهی لوله یکی از دو مسیر را انتخاب می‌کرد سپس به شکارگر اجازه داده می شد تا دو سوم جهت انتخاب شده را طی کند و بعد از لوله خارج می‌شد. برای هر ژنوتیپ در هر تکرار آزمایش رفتار ۱۰ کنه‌ی شکارگر (در مجموع ۵۰ شکارگر برای هر ژنوتیپ با پنج تکرار) بررسی شد. آزمایش ها در دمای ۱±۲۳ درجه‌ی سلسیوس انجام گرفت. در نهایت داده‌های به دست آمده از این آزمایش با استفاده از آزمون نکوئی برازش و نرم افزار Excel 2010 تجزیه شد. این آزمون بر مبنای آزمون کای اسکوئر می‌باشد. برای تجزیه داده‌های آزمایشات بوسنجی بایستی دو G محاسبه شود: G_H و G_P. فرض صفر در G_H، این است که بین تکرارهای آزمایش تفاوت معنی‌داری وجود ندارد و تکرارها همگن می‌باشند. در مورد G_P، فرض صفر این است که شکارگر بین دو بازوی بوسنج (گیاه سالم و آلوده هر ژنوتیپ) تمایزی نشان نداده است.

نتایج و بحث

تجزیه‌ی واریانس داده ها نشان داد که اثر ژنوتیپ برای همه صفات مرتبط با مقاومت به کنه‌ی تارتن دولکه‌ای در شرایط گلخانه‌ای در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است ($F_{۷,٤۸}$ برای تعداد کنه، تعداد تخم و مقیاس خسارت به ترتیب ۲۲/۹۳، ٦/۳۱ و ۲۵/۰۲).

[1] olfactometr

با مقایسه‌ی میانگین‌ها، ژنوتیپ‌ها از نظر تعداد کنه‌ی ماده‌ی بالغ و همچنین مقیاس خسارت در دو گروه a (خمین) و b (بقیه ژنوتیپ‌ها) قرار گرفتند، ولی از نظر تعداد تخم در برگ، ژنوتیپ‌هادر چهارگروه a (خمین)، b (Ks٤١١٢٨)، bc (بقیه ژنوتیپ‌ها) و c (KS١١١٥) دسته بندی شدند (جدول ۱). نتایج بیانگر این هستند که کلیه‌ی ژنوتیپ‌ها به لحاظ تعداد تخم و تعداد کنه‌ی ماده‌ی بالغ، مقاومت بیشتری نسبت به ژنوتیپ شاهد حساس به کنه‌ی دولکه‌ای (خمین) داشته‌اند. در گلخانه بین ژنوتیپ‌های لوبیا سیاه تفاوت معنی‌داری از لحاظ مقاومت وجود نداشت و همه‌ی ژنوتیپ‌های لوبیا سیاه به کنه‌ی دولکه‌ای مقاوم بوده و از لحاظ مقیاس مقاومت همه آن ها در دسته‌ی مقاوم (R) قرار گرفتند. این نتایج مشابه با نتایج تحقیقات انجام شده توسط کمبل و بریت (١٩٨٦) و طهماسبی و همکاران، (۱۳۸۸) است.

از بین ژنوتیپ‌های لوبیا سیاه، کمترین تعداد شمارش شده کنه‌ی ماده‌ی بالغ در ژنوتیپ KS١١١٥ با میانگین ٠/٥٦ عدد در هر برگ بود. در واقع تعداد کنه‌های شمارش شده روی این ژنوتیپ، کمتر از ۱۰ درصد تعداد شمارش شده روی ژنوتیپ شاهد حساس به کنه‌ی تارتن دولکه‌ای (خمین) بود. کم‌ترین تعداد تخم نیز در همین ژنوتیپ، با میانگین ٠/٦٩ شمارش شد که در حدود ۱۰ درصد تعداد شمارش شده روی ژنوتیپ شاهد حساس بود (جدول ۱). بیشترین تعداد کنه‌ی ماده‌ی بالغ و تخم آن در مقایسه با ژنوتیپ خمین (شاهد حساس به کنه‌ی دولکه ای) نیز مربوط به ژنوتیپ لوبیای سفید ، به ترتیب با میانگین ١/٤٤ کنه‌ی ماده‌ی بالغ یعنی ٢٢/٨٦ درصد تعداد شمارش شده بر روی ژنوتیپ خمین و ٢/٩٤ تخم یعنی ٤٢/٧٣ درصد از تعداد شمارش شده روی ژنوتیپ خمین بود (جدول ۱). بنابراین می توان اظهار داشت که در این آزمایش ژنوتیپ لوبیا سفید مقاومت کمتری نسبت به ژنوتیپ‌های لوبیای سیاه داشته است ولی برای نتیجه گیری کلی راجع به مقاوم بودن لوبیای سیاه نسبت به لوبیای سفید لازم است تعداد بیشتری از ژنوتیپ‌های لوبیا سفید و سیاه مورد ارزیابی و مقایسه قرار بگیرند. علت مقاومت لوبیای سیاه نسبت به لوبیای سفید این است که لوبیای سیاه حاوی طیف گسترده‌ای از فلاونوئیدها، از جمله فلاونول‌ها، گلیکوزیدهای فنولی، آنتوسیانین‌ها، پروآنتوسیانیدین‌ها، ایزوفلاون و نیز برخی از اسیدهای فنولیک می‌باشد (فرناندز، ۲۰۱۰). همچنین لوبیای سیاه عمدتا تانن بیشتری در اندام‌های هوایی دارد و تانن ها نیز جزو عوامل حفاظتی گیاه می‌باشند که عموماً به منظور حفاظت و حمایت ازگیاهان در برابر گیاهخواران و غیره بوجود آمده اند تا جایی که بسیاری از گیاهان میزان تانن یا آنتوسیانین خود را در پاسخ به تنش یا مرگ بافت گیاهی افزایش می‌دهند (الکین و همکاران، ۱۹۹۰).

بر اساس مقیاس خسارت چشمی، کلیه‌ی ژنوتیپ‌ها به استثناء خمین (شاهد حساس به کنه‌ی تارتن دولکه‌ای) که با مقیاس بزرگ‌تر از دو، حساس در نظر گرفته شد، مقیاس صفر یا یک داشتند و بنابراین واکنش مقاوم برای آنها در نظر گرفته شد. البته مقیاس خسارت موردنظر به لحاظ چشمی بودن، از دقت بالایی برخوردار نمی‌باشد (طهماسبی و همکاران، ۱۳۸۸) و تا حدودی از خطای چشم و دقت فرد تعیین کننده تاثیر می‌پذیرد و با این مقیاس نمی‌توان تفاوت‌های موجود بین ژنوتیپ‌ها را با دقت ثبت کرد. امروزه برای تعیین مقیاس خسارت، به جای استفاده از چشم از اسکن برگ و برنامه های کامپیوتری خاص استفاده می‌شود (کانت و همکاران، ٢٠٠٤). لیکن برای آزمایش‌های ارزیابی اولیه‌ی مقاومت ژنوتیپ‌های گیاهی به آفات، به دلیل بالا بودن حجم مواد آزمایشی مورد ارزیابی، نیازمند صرف هزینه و زمان بیشتری نسبت به روش چشمی است. اگر چه در این تحقیق تعداد ژنوتیپ‌های مورد ارزیابی زیاد نبود ولیکن همانطور که ذکر شد استفاده از این روش نیازمند امکانات خاصی از جمله

نرم افزارهای کامپیوتری می‌باشد که در داخل کشور وجود ندارد.

آزمون بوسنجی

تجزیه‌ی داده های حاصل از آزمون بوسنجی با آزمون نکوئی برازش (جدول۲) نشان داد که چون مقدار G_H در همه‌ی تکرارهای آزمایش بزرگتر از ۰/۰۵ است، در نتیجه در تمام آزمایش ها غیریکنواختی بین پنج تکرار آزمایش وجود ندارد. بنابراین می‌توان داده‌های تکرارهای مختلف را برای هر آزمایش با یکدیگر جمع کرد و وجود و یا عدم وجود تفاوت معنی‌دار در جلب کنه‌ی شکارگر بین دو بازوی دستگاه را در هرآزمایش بررسی نمود.

بر اساس نتایج بدست آمده ، در ژنوتیپ‌های لوبیا سیاه به استثنای ژنوتیپ‌های KS۱۱۱۵ و KS۱۱۹۰، کنه‌ی شکارگر *P. persimilis* گیاهان آلوده به کنه‌ی تارتن دولکه‌ای را نسبت به گیاهان سالم به طور معنی‌داری ترجیح داد (شکل ۱). در واقع در ژنوتیپ‌های KS۱۱۱۵ و KS۱۱۹۰ تفاوت معنی‌داری در میزان جلب شکارگر بین دو بازوی دستگاه بوسنج (گیاه آلوده و سالم) مشاهده نشد. این نتایج بیانگر تنوع در جلب شکارگر در بین ژنوتیپ‌های لوبیا سیاه می‌باشد. به طور مشابه دیکه و همکاران (۱۹۹۰a) تفاوت در جلب شکارگر *P. persimilis* را در دو واریته‌ی لوبیای آلوده به کنه‌ی تارتن دولکه‌ای گزارش کردند. همچنین کریپس و همکاران (۲۰۰۱) تفاوت در جلب کنه‌ی شکارگر *P. persimilis* را در بین ژنوتیپ‌های ژربرا، و باومیستر و همکاران (۲۰۰۳) در بین ژنوتیپ‌های کدو مشاهده نمودند.

نتایج بدست آمده در آزمایش بوسنجی نشان داد که ژنوتیپ‌های KS۱۱۱۵ و KS۱۱۹۰ که مقاوم‌ترین ژنوتیپ در آزمایش‌های گلخانه‌ای بودند، کم‌ترین میزان جلب شکارگر را در بین ژنوتیپ‌ها داشتند و میزان جلب کنه‌ی شکارگر در گیاهان آلوده به کنه‌ی تارتن دولکه‌ای در مقایسه با گیاهان غیر آلوده معنی‌دار نبود. ژنوتیپ‌های KS۱۱۵۷ و KS۱۱۷۹ هم که در بین سایر ژنوتیپ‌های لوبیا سیاه، کم‌ترین مقاومت به کنه‌ی تارتن دولکه‌ای را داشتند، بیش‌ترین جلب کنه‌ی شکارگر در حالت آلودگی را داشته و میزان جلب کنه‌ی شکارگر در گیاهان آلوده در مقایسه با گیاهان غیر آلوده‌ی آن‌ها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. در ژنوتیپ‌های Ks۱۱۷۷ و Ks۱۱۸۳ لوبیا سیاه نیز میزان جلب کنه‌ی شکارگر در گیاهان آلوده در مقایسه با گیاهان غیر آلوده‌ی آن‌ها در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد. بنابراین نتایج حاکی از آن است که ژنوتیپ‌های لوبیای سیاه با دفاع مستقیم قوی‌تر، لحاظ دفاع غیرمستقیم ضعیف‌تر بوده‌اند، و برعکس ژنوتیپ‌هایی که دفاع مستقیم آن‌ها نسبت به بقیه ژنوتیپ‌های لوبیا سیاه ضعیف‌تر بود، از نظر دفاع غیرمستقیم و جلب شکارگر به صورت موفقیت‌آمیزی عمل کرده‌اند. همچنین قبل از انجام آزمایش به نظر می‌رسید حضور مقدار تانن بالا در ژنوتیپ‌های لوبیا سیاه بتواند روی رفتار شکارگرها هم تاثیر بگذارد ولی نتایج نشان داد که ژنوتیپ‌های لوبیای سیاه واکنش مشابهی در جلب کنه‌ی شکارگر از خود نشان ندادند، بنابراین به نظر می‌رسد رنگ بذر و حضور تانن‌ها و آنتوسیانین‌ها رابطه مشخصی با جلب شکارگر نداشته باشد، هر چند با اندازه‌گیری مقدار تانن بذور به صورت بهتری می توان این رابطه را تعیین نمود. تانن و مشتقات آن از موادی هستند که به وفور در گیاه آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh) یافت می‌شوند. نتایج بعضی تحقیقات نشان دهنده‌ی رابطه‌ی مثبت بین جلب شکارگر و مقدار تانن است از جمله اینکه چیهاب و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که به دنبال آلودگی گیاهان آرابیدوپسیس به شته‌ها، ایزوفلاونوئید افزایش یافته و باعث جلب زنبور پارازیتوئید *Aphidius colemani* Viereck به این گیاهان شد. همچنین هالیشک و همکاران (۲۰۰۸) نشان

دادند که به دنبال آلودگی این گیاه با *Pieris rapae* L. مقدار دی هیدروفلاونول و بتاکوئینون افزایش یافته و باعث جلب زنبور پارازیتوئید *Cotesia rubecula* Marshall شد. برعکس تحقیقات ذکر شده در فوق، بین مقدار بالای تانن و جلب شکارگر ممکن است رابطه‌ی منفی نیز وجود داشته باشد.

تانن ها کیفیت پروتئین ها را برای استفاده حشرات کاهش می دهند. بیشتر بقولات و گیاهان علوفه ای گرمادوست دارای تانن هستند، که احتمالاً مهمترین عامل ضد تغذیه‌ای در این گونه گیاهان می باشد.

هوبالاه و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند که در پی آلوده شدن گیاهان پتونیا *Petunia axillaris* Lam با لارو پروانه‌ی *Manduca sexta* L. تانن موجود در گیاه باعث دفع شکارگرهای آفاتی چون *P. rapae* و *Vanessa indica* Herbst شد. بنابراین به نظر می‌رسد تانن موجود در گیاهان رابطه‌ی مشخصی با جلب شکارگر ندارد.

ژنوتیپ KS۴۱۱۲۸ لوبیا سفید شاهد نیز به میزان بالایی شکارگر را به خود جلب کرد و از نظر جلب کنه‌ی شکارگر بعد از آلودگی به کنه‌ی تارتن دولکه‌ای با سایر تیمارها در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌دار نشان داد. ژنوتیپ حساس خمین نیز علاوه بر حساسیتی که در آزمایشات ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌ها به کنه‌ی دولکه‌ای از خود نشان داد، در آزمایشات بوسنجی نتوانست کنه‌ی شکارگر را در حالت آلوده به کنه به طورمعنی‌داری نسبت به حالت شاهد جلب نماید، و گیاه آلوده به کنه‌ی دولکه‌ای در مقایسه با گیاه سالم تقریبا به یک میزان کنه‌ی شکارگر را جلب کرد. در این دو ژنوتیپ رابطه مثبت بین مقاومت به کنه‌ی دولکه‌ای (دفاع مستقیم) و جلب کنه‌ی شکارگر (دفاع غیرمستقیم) وجود دارد. دیکه و همکاران (۲۰۰۳) نیز نشان دادند که رابطه‌ی مثبت بین دفاع مستقیم و غیرمستقیم گیاهان وجود دارد و گیاهی که دفاع مستقیم بیشتری دارند، ممکن است کنه‌های شکارگر بیشتری را جلب کند. در برخی دیگر از مطالعات همبستگی مثبتی بین درجه ای از مقاومت و مقدار مواد فرار منتشر شده بوسیله گیاه مشاهده شده است (گلس و همکاران، ۲۰۰۳).

بر اساس نتایج بدست آمده از این تحقیق برخی ژنوتیپ‌های لوبیا سیاه (KS۱۱۵۷ و KS۱۱۷۹) علاوه بر آنکه ژنوتیپ‌های مقاومی بودند، در دفاع غیرمستقیم و جلب شکارگر نیز موفق بودند. اگر چه ممکن است مقاومت این ژنوتیپ‌ها در شرایط با میزان بالای آلودگی به کنه‌ی تارتن دولکه‌ای شکسته شود و لیکن از آنجائیکه گیاهان دفاع غیرمستقیم خود را برای تکمیل دفاع مستقیم فعال می‌کنند (کانت و همکاران، ۲۰۰٤)، وقتی کنه‌ی تارتن دولکه‌ای بر دفاع مستقیم گیاه غلبه می‌کند، گیاه می‌تواند به طور غیرمستقیم به وسیله جلب شکارگر از خود در برابر آفت دفاع کند (تاکاباياشی و همکاران، ۲۰۰۰). لذا می‌توان مقاومت گیاهی این ژنوتیپ‌ها را با کنترل بیولوژیک تلفیق کرد، اگرچه کاربرد این امر نیازمند مطالعات بیشتری می‌باشد.

جدول ۱- مقایسه‌ی میانگین تعداد کل ماده‌ی بالغ و تخم کنه‌ی دولکه ای به ازای هر برگ و مقیاس خسارت ژنوتیپ‌های لوبیای مورد مطالعه در گلخانه.

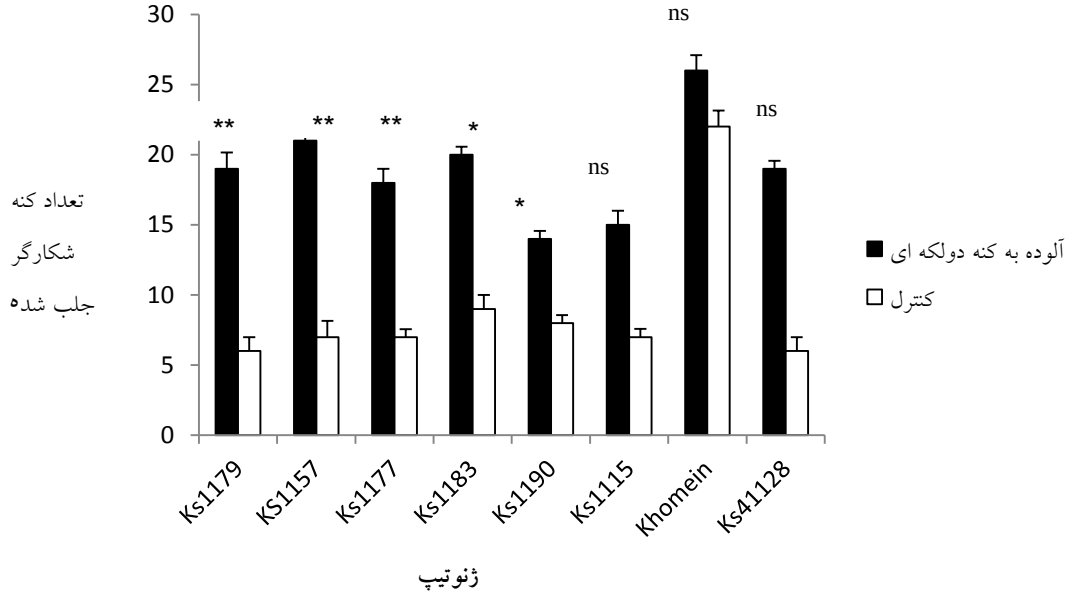
ژنوتیپ	تعداد تخم/برگ	درصد تخم از کل تخم خمین	تعداد کنه ماده‌ی بالغ/برگ	درصد کنه‌ی بالغ از کل کنه‌ی بالغ خمین	مقیاس خسارت	نوع واکنش مقاومت
خمین	٦/٨٨a	١٠٠	٦/٣a	١٠٠	٢/١٩a	S
Ks٤١١٢٨	٢/٩٤b	٤٢/٧٣	١/٤٤b	٢٢/٨٦	٠/٦٣b	R
Ks١١٧٩	٢/٧٥bc	٣٩/٩٧	١/١٨b	١٨/٧٣	٠/٦٣b	R
Ks١١٥٧	٢/٢٥bc	٣٢/٩٤	٠/٨٨ b	١٣/٩٧	٠/٥٦b	R
Ks١١٨٣	٢/٠٦bc	٣٠/١٦	٠/٨٤b	١٣/٣٣	٠/٥٠b	R
Ks١١٧٧	١/٦٩bc	٢٤/٧٤	٠/٧٨b	١٢/٣٨	٠/٤٧b	R
Ks١١٩٠	١/٣٤bc	١٩/٦٢	٠/٦٩b	١٠/٩٢	٠/٤١b	R
Ks١١١٥	٠/٦٩c	١٠/١٠	٠/٥٦b	٨/٨٩	٠/٣٤b	R

میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک در یک ستون هستند از نظر آماری در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند. حروف R و S به ترتیب به معنی مقاوم و حساس می‌باشند.

جدول ۲- نتایج آزمون نکوئی برازش آزمایش بررسی پاسخ افراد ماده‌ی کنه‌ی شکارگر *P. persimilis* به ترکیبات ترشح شده از گیاهان سالم و آلوده به کنه دولکه ای ژنوتیپ‌های لوبیای مورد مطالعه.

نام ژنوتیپ	G_p	G_H
Ks١١٥٧	٧/٣٣ **	١/٥٤ ns
Ks١١٧٩	٧/١ **	٠/٣٩ ns
Ks١١٢٨	٧/١ **	١/٠٧ ns
Ks١١٧٧	٥/٠٠٩ **	٠/٥٣ ns
Ks١١٨٣	٤/٢٨ **	٠/٧١ ns
Ks١١١٥	٢/٩٨ ns	٠/٣٢ ns
Ks١١٩٠	١/٦٦ ns	٠/٠٥ ns
خمین	٠/٣٣ ns	١/٩٤ ns

***و ** در مورد G_p، به ترتیب نشان دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و یک درصد از فرض صفر (کنه‌ی شکارگر گیاهان آلوده و شاهد از یک ژنوتیپ مشابه را با یک نسبت ۱:۱ ترجیح می‌دهد) و در مورد G_H، به ترتیب نشان دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و یک درصد بین تکرارهای مختلف آزمایش است. ns نیز به معنای عدم تفاوت معنی‌دار می باشد.**



شکل ۱- پاسخ افراد ماده‌ی بالغ کنه‌ی شکارگر *P. persimilis* **به ترکیبات ترشح شده از برگ‌های شش ژنوتیپ لوبیا سیاه و ژنوتیپ‌های شاهد سالم و آلوده به کنه‌ی تارتن دولکه‌ای.**

*** و ** به ترتیب نشان دهنده‌ی تفاوت معنی دار در سطح ۵ درصد و یک درصد از فرض صفر (کنه‌ی شکارگر، گیاهان آلوده و کنترل از یک ژنوتیپ مشابه را با یک نسبت ۱:۱ ترجیح می‌دهد) بر اساس آزمون نکوئی برازش.**

منابع مورد استفاده

احمدی م، فتحی‌پور ی و کمالی ک، محرمی‌پور س و طالبی ع ا، ۱۳۸۳. زیست‌شناسی آزمایشگاهی کنه *Tetranychus urticae* Koch روی ارقام مختلف لوبیا. صفحه ۲٦٦ خلاصه مقالات شانزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، دانشگاه تبریز، ایران، تبریز.

دانشور ه و قلیچ‌آبائی م. ۱۳۷۲. بررسی امکان کنترل جمعیت *Tetranychus turkestani* روی پنبه، سویا و لوبیا بوسیله *Phytoseiulus persimilis* در کانون‌های آلودگی. آفات و بیماری های گیاهی، جلد ۱ (شماره های ۱ و ۲): صفحه‌های ٦۱ تا ۷٦.

سعیدی ز و اربابی م، ۱۳۸٦. مقایسه‌ی کارایی دوازده کنه‌کش/حشره‌کش در دو سطح آلودگی مزارع لوبیا آلوده به کنه‌ی تارتن دولکه‌ای (*Tetranychus urticae*) در منطقه لردگان استان چهار محال و بختیاری، پژوهش و سازندگی، شماره ۳۱، صفحه‌های ۲۵ تا ۷٦.

طهماسبی ز، بی‌همتا م ر، حسین‌زاده ع، صبوری ع ر، کوثری ع ا و دری ح ر، ۱۳۸۸. واکنش ژنوتیپ‌های لوبیا به کنه دولکه‌ای (*Tetranychus urticae* Koch) در گلخانه و مزرعه. مجله به نژادی نهال و بذر، جلد ۱-۲۵، شماره ۲، صفحه‌های ۳۲۹ تا ۳٤۸.

طهماسبی ز، بی‌همتا م ر، حسین زاده ع، صبوری ع، نقوی م ر و دری ح، ۱۳۸۹. ارزیابی مقاومت ارقام لوبیا به کنه دولکه‌ای درسه منطقه ایران. نامه انجمن حشره شناسی ایران، ۳۰، صفحه‌های ٦۹ تا ۷۸.

لک م و اربابی م، ۱۳۷۷. کاربرد کنه‌ی شکارگر، *Phytoseiulus persimilis*، بر علیه کنه تارتن دولکه‌ای در مناطق خشک اراک، گزارش نهایی طرح، مرکز تحقیقات کشاورزی استان مرکزی، صفحه‌ی ۲۳.

Arimura G, Kost C and Boland W, 2005. Herbivore-induced, indirect plant defences. Biochimica et Biophysica Acta 1734: 91– 111.

Barbehenn RV and Constabel PC, 2011. Tannins in plant-herbivore interactions. Phytochemistry 27: 1551–1565.

Bouwmeester HJ, Verstappen FWA, Aharoni A, Lücker J, Jongsma MA, Kappers IF, Luckerhoff, LLP, and Dicke M, 2003. Exploring multi-trophic plant herbivore interactions for new crop protection methods. Proceedings of the BCPC International Congress of Crop Science & Technology 2: 1123-1134.

Bynum ED, Xu W and Archer TL, 2004. Diallel analysis of spider mite resistance maize inbred lines and F1 crosses. Crop Science 44: 1535-1549.

Campbell W V and Brett CH, 1986. Varietal resistance of beans to the Mexican bean beetle. Journal of Economic Entomology 59:899-902.

Chehab EW, Kaspi R, Savchenko T, Rowe H, Negre-Zakharov F, Kliebenstein D, Dehesh K, 2008. Distinct roles of jasmonates and aldehydes in plant-defense responses. PLOS ONE 3:e1904.

De Boer JG, Posthumus GD and Dicke M, 2004. Identification of volatiles that are used in discrimination between plants infested with prey or non-prey herbivores by a predatory mite. Journal of Chemical Ecology 30: 2215-2230.

Dicke M, Poecke RMP and Boer JG, 2003. Inducible indirect defense of plants: from mechanisms to ecological functions. Basic Applied Ecology 4: 27–42.

Dicke M, Sabelis MW, Takabayashi J, Bruin J and Posthumus MA, 1990a. Plant strategies of manipulating predator-prey interactions through allelochemicals: prospects for application in pest control. Journal of Chemical Ecology 16: 3901-3118.

Dicke M, Van Beek TA, Posthumus MA, Been Dom N Van, Bokhoven H, and Groot ADE, 1990b.Isolation and identification of volatiles kairomone that affects acarine predator-prey interaction. Journal of Chemical Ecology 16: 381-396.

Elkin RG, Rogler JC and Sullivan TW, 1990. Comparative effects of dietary tannins in ducks, chicks, and rat. Poultry Science 69: 1685-1693,

Fernandez-Muñoz R, Domınguez E and Cuartero J, 2000. A novel source of resistance to the two-spotted spider mite in *Lycopersicon pimpinellifolium* (Jusl.) Mill: its genetics as affected by interplot interference. Euphytica 111: 169–173.

Fernandes AC, Nishida W, da Costa Proenc RP, 2010. Influence of soaking on the nutritional quality of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) cooked with or without the soaking water: a review. International Journal of Food Science and Technology 45: 2209–2218.

Gols R, Roosjen M, Dijkman H, and Dicke M, 2003. Induction of direct and indirect plant responses by jasmonic acid, low spider mite densities, or a combination of jasmonic acid treatment and spider mite infestation. Journal of Chemical Ecology 29:2651–2666.

Halitschke R, Stenberg JA, Kessler D, Kessler A, and Baldwin IT. 2008. Shared signals-'alarm calls' from plants increase apparency to herbivores and their enemies in nature. *Ecology Letters* 11:24–34.

Hoballah M, Tamo C and Turlings T, 2002. Differential attractiveness of induced odors emitted by eight maize varieties for the parasitoid *Cotesia marginiventris*: is quality or quantity important? Journal of Chemical Ecology 28: 951-968.

Islam FMA, Rengifo J, Redden RJ, Basford K E and Beebe SE, 2003. Association between seed coat polyphenolics (tannins) and disease resistance in common bean. Plant Foods for Human Nutrition 58: 285-297.

Jara B, Acosta A, and Cardona C, 1991. Efecto de cinco variedades de frijol sobre la biologia y la fecondidad de la aranita roja, *Tetranychus desertorum* Banks (Acari, Tetranychidae). Revista Colombiana de Entomología 7(1/2): 33-39.

Kant M, Ament K, Sabelis M, Haring M and Schuurink R, 2004. Differential timing of spider mite-induced direct and indirect defenses in tomato plants. Plant Physiology 135: 1–13.

Krips OE, Willems P E L, Gols R, Posthumus, M A, Gort G and Dicke M, 2001. Comparison of cultivars of ornamental crop *Gerbera jamesonii* on production of spider mite-induced volatiles, and their attractiveness to the predator *Phytoseiulus persimilis*. Journal of Chemical Ecology 27: 1355–1372.

Labanowska B, 2007. Susceptibility of strawberry cultivars to the two spotted spider mite (*Tetranychus urticae*). Journal of Fruit and Ornamental Plant Research 15: 133-146.

McFarlane JS and Rieman GM, 1983. Leafhooper resistance among the bean varieties. Journal of Economic Entomology 36:639.

Menezes JR and Dianese JC, 1988. Race characterization of Brazilian isolates of *Colletotrichum lindemuthianum* and detection of resistance to anthracnose in *Phaseolus vulgaris*. Phytopathology 78(6): 650-655.

Shanks C, Chandler C, Show E and Moore P, 1995. *Fragaria* resistance to spider mites at three locations in the United States. Horticulture Science 30(5): 1068-1069.

Tahmasebi Z, Mohammadi H. Arimura G, Muroi A, Kant M. 2014. Herbivore-induced indirect defense across bean cultivars is independent of their degree of direct resistance. Experimental and Applied Acarology 63:217–239.

Takabayashi J, Shimoda T, Dicke M, Ashihara W and Takafuji A. 2000. Induced response of tomato plants to injury by green and red strains of *Tetranychus urticae*. Experimental and Applied Acarology 24: 377–383.

Zhang ZQ, 2003. Mites of Greenhouses: Identification, Biology and Control. *CABI Publishing*, 244 pp, 2.

Interactions of Black Common Bean-Two Spotted Spider Mite- Predatory Mite *Phytoseiulus persimilis*

A Bouchani[1], Z Tahmasebi[2*] and H Mohammadi[3]

[1]MSc Student, Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, University of Ilam
[2]Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, University of Ilam
[3]Instractor , Department of Plant Protection College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran
*Corresponding author:: ztahmasebi@ut.ac.ir

Received:14 Dec 2014 Accepted:25 Apr 2015

Abstract

Two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch, is one of the most harmful pests causing serious damages to beans farms throughout the world including Iran. Among the various beans genotypes, black beans (*Phaseolus vulgaris* L.) have showed high resistance level to most of pests and diseases. In addition to the high direct resistance, the black beans can protect themselves against the pests indirectly by attracting natural enemies of herbivores. Since these direct and indirect protections have not been studied on black bean genotypes before, it was necessary to investigate the resistance of six black bean genotypes to two-spotted spider mite in a greenhouse condition. These results were further analysed by using an olfactometry test to investigate attraction of the predatory mite, *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot to black bean genotypes. The results of the greenhouse experiments showed that all the black bean genotypes were resistant to spider mite. The results of olfactometer test also indicated that two resistant genotypes of black beans genotypes of black beans (KS1157 and KS1179) attracted more predator mites than the others. Therefore, the less damaged genotypes, KS1179 and KS1157, could be incorporated with predatory mite and used in an integrated pest control program.

Keywords: Indirect defence, Direct defence, Olfactometry test.