Iranian Journal of Plant Protection Science
Vol 47, No 2, Autumn & Winter 2016-2017 (209-218)
DOI: 10.22059/ijpps.2017.137469.1006674

دانش گیاهپزشکی ایران
دورهٔ ۴۷، شمارهٔ ۲، پاییز و زمستان ۱۳۹۵ (ص ۲۱۸-۲۰۹)

بررسی سازوکارها و بیان پروتئین‌های مرتبط با مقاومت یازده ژنوتیپ بادمجان به کنهٔ *Tetranychus urticae*

هدیه شروبار[۱]، مهدی کاکایی[۲*] و مرضیه صفرالهی[۳]

۱. کارشناسی ارشد حشره‌شناسی، مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، ایران، و دانشجوی سابق کارشناسی ارشد گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه بوعلی سینا، همدان

۲. استادیار دانشگاه پیام نور، گروه مهندسی کشاورزی (اصلاح نباتات و ژنتیک)، تهران ۴۶۹۷-۱۹۳۹۵

۳. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد حشره‌شناسی کشاورزی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۹/۲۳ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۹/۱۷)

چکیده

کنهٔ تارتن دونقطه‌ای یکی از مهم‌ترین آفات چندین‌خوار (پلی‌فاژ) است که هر ساله آسیب و زیان شایان توجهی روی محصولات مختلف از جمله بادمجان ایجاد می‌کند. امروزه استفادهٔ تلفیقی از روش‌های مختلف کنترل کنه‌های تارتن دونقطه‌ای در قالب برنامه‌های IPM و با محوریت رقم‌های مقاوم، یکی از مناسب‌ترین راه‌ها برای کاهش کاربرد سموم شیمیایی و کشاورزی ایمن به شمار می‌آید. در این پژوهش، دو سازوکار آنتی‌زنوز و تحمل یازده ژنوتیپ بادمجان در گلخانه‌ای با نوسان دمای شبانه‌روز بین ۱۸ تا ۲۷ درجهٔ سلسیوس و در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار بررسی شد. همچنین میزان پروتئین‌های بیان‌شده و تفاوت بیان آن‌ها در ژنوتیپ‌های مختلف با استفاده از روش SDS-PAGE و نیز ارتباط آن با شمار کنه‌های تارتن جلب‌شده در فرآیند آزمون آنتی‌زنوز ارزیابی شد. برای تشخیص همبستگی بین صفات گلخانه‌ای و داده‌های مولکولی، از آزمون مانتل استفاده شد. ژنوتیپ‌های مورد بررسی بر پایهٔ همهٔ صفات مورد بررسی به روش سلسله مراتبی Ward در چهار خوشهٔ مقاوم (برازجان، یلدا و لیندا)، نیمه‌مقاوم (بلاک-بیوتی، لیدی و محلی زابل)، نیمه حساس (۹۰۵ امامی، کیم و بلاکی) و حساس (سیاه مشهد و لیما) دسته‌بندی شدند. بنابراین، ژنوتیپ‌های برازجان، لیندا و یلدا می‌توانند به‌عنوان ژنوتیپ‌های دارای قابلیت مقاومت به کنهٔ تارتن دونقطه‌ای مدنظر قرار گرفته و در آزمون‌های تکمیلی، بررسی شوند.

واژه‌های کلیدی: آزمون مانتل، آنتی‌زنوز، تحمل، کنهٔ تارتن دونقطه‌ای و SDS-PAGE.

Study of the mechanisms and protein expression associated with the resistance of eleven eggplant genotypes to *Tetranychus urticae*

Hedye Shararbar[1], Mehdi Kakaei[2*] and Marzeh Safarolahi[3]
1. M. Sc. Student, Kermanshah University of Medical Sciences, Medical Biology Research Center, Kermanshah, Iran and Former M. Sc. Student, Department of Plant Protection, Bu-Ali Sina University of Hamedan, Iran
2. Assistant Professor, Department of Agriculture (Plant Breeding & Genetic), Payam Noor University, Tehran, Iran
3. Former M. Sc. Student, Department of Plant Protection, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran
(Received: Dec. 14, 2015 - Accepted: Dec. 7, 2016)

ABSTRACT

Two-spotted spider mite is the most important polyphagous pest which causes considerable damage to different crops including eggplant annually. Nowadays, using different integrated control methods against the spider mites is one of the most appropriate ways to reduce pesticides use and increase agriculture safety which can be achieved through selecting resistant varieties. In this study, the antixenosis and tolerance mechanisms of 11 genotypes of eggplant were investigated in a greenhouse with temperature fluctuations between day and night ranging from 18 to 27˚C in the form of a completely randomized design with three replicates. Also, protein expression in different genotypes was evaluated using SDS-PAGE and the relationship between protein expression and the number of spider mites attracted to each species were analyzed by the antixenosis test. To determine the correlation between greenhouse traits and molecular data, the Mantel test was used. The hierarchical grouping method of the ward was used to classify genotypes traits which led to four clusters of resistant (Borazjan, Yalda and Linda), moderately resistant (Black beauty, Lady and Mahali-Zabol), moderately susceptible (905 Emami, Kime and Blacky), and susceptible (Siahe-Mashhad and Lima). Results clarified that Borazjan, Linda, and Yalda genotypes could be considered as potential *T. urticae* resistant genotypes and examined in further experiments.

Keywords: Antisenosis, mantel test, SDS-PAGE, tolerance, two spotted spider mite.

* Corresponding author E-mail: Mehdikakaei37@gmail.com Tel: +98 918 816 2875

www.SID.ir

مقدمه

کنهٔ تارتن دونقطه‌ای *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) یکی از مهم‌ترین آفات بادمجان *Solanum melongena* L. در ایران و بسیاری از کشورهای جهان است (Khanjani, 2009). از جمله مهم‌ترین ویژگی‌های این آفت می‌توان به قابلیت و ظرفیت بالای تولیدمثلی، شمار نسل‌های فراوان، دامنهٔ میزبانی گسترده و توانایی ایجاد مقاومت نسبت به طیف گسترده ای از آفت‌کش‌های شیمیایی اشاره کرد (Sedaratian *et al.*, 2009). این آفت با تغذیه از محتویات یاخته‌ای برگ، موجبات کاهش میزان نورساخت (فتوسنتز) گیاه را فراهم آورده و در نهایت کاهش کیفیت و کمیت محصول را در بر دارد. همچنین جذب گردوخاک به تارهای تنیده شده در سطح گیاه به‌وسیلهٔ آفت آسیب وارده را دوچندان می‌کند (Prischmann *et al.*, 2005). کنترل کنه‌های تارتن روی گیاهان و محصولات مختلف کشاورزی اغلب با تکیه بر آفت‌کش‌های شیمیایی صورت می‌گیرد. این روش افزون بر ایجاد آلودگی‌های زیست‌محیطی، نابودی دشمنان طبیعی و ایجاد مسمومیت‌های مزمن در انسان و جانوران غیرهدف، سبب بروز مقاومت در این آفت نسبت به آفت‌کش‌های مصرفی شده است (Carbonaro *et al.*, 1986). از جمله راهکارهایی که امروزه به‌منظور کنترل جمعیت‌های کنهٔ تارتن دونقطه‌ای در اکوسیستم‌های کشاورزی به‌صورت گسترده‌ای مورد توجه محققان مختلف قرار گرفته است، استفاده از برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات (IPM)[1] در کنترل این آفت است است که در این میان استفاده از رقم‌های مقاوم گیاهی نقشی غیر قابل انکار دارد (Khanamani, 2012) استفادهٔ تلفیقی از روش‌های مختلف کنترل آفات در قالب برنامه‌های IPM با محوریت رقم‌های مقاوم، مناسب‌ترین راه حل برای کاهش مصرف سموم شیمیایی در اکوسیستم‌های کشاورزی به نظر می‌رسد (Maxwell & Jennings, 1980). امروزه بحث استفاده از رقم‌های مقاوم به صورت جدی توسط دوستداران کشاورزی پایدار دنبال شده و محبوبیت این روش در پاره‌ای از موارد به حدی رسیده است که از آن به‌عنوان هستهٔ مرکزی IPM نیز یاد می‌شود (Khanamani, 2012).

بخشی از منابع منتشرشده در ارتباط با گیاه میزبان و کنه‌های تارتن به بررسی مقاومت یا حساسیت گیاهان میزبان نسبت به کنه‌های تارتن اختصاص دارد. ویژگی‌های گیاه میزبان یکی از عامل‌های مهم در افزایش جمعیت کنه‌های تارتن است (Wrensch, 1985). پروتئین‌ها از جمله متابولیت‌های اولیهٔ مرتبط با میزبان یابی حشرات آفت هستند که در ایجاد سازوکار آنتی‌زنوز (آنتی‌زنوز) گیاه نقش دارند (Smith, 1989). Wrensch (1985)، مقاومت رقم‌های مختلف تنباکو را نسبت به کنه‌های تارتن دونقطه‌ای بررسی کرده و علت این مقاومت را تلفیق سازوکارهای آنتی‌زنوز و آنتی‌بیوز ناشی از آلکالوئیدهای موجود در گیاه تنباکو بیان کرد. وی بیان کرد که این سازوکارها به همراه ترشحات چسبناک و سمی تریکوم‌ها، سبب به دام‌افتادن و تلف‌شدن کنه‌های تارتن دونقطه‌ای در سطح برگ می‌شوند. Steinite & Ievinsh (2002) در بررسی‌ای نقش کرک‌های موجود روی برگ توت‌فرنگی در میزان مقاومت رقم‌های مختلف آن نسبت به کنه تارتن دونقطه‌ای را ارزیابی کرد.

پژوهشگران اصلاح‌نباتات، همیشه در پی یافتن نشانگرهای ژنتیکی هستند که با صفات پیوستگی نشان داده و بتوان از این نشانگرها به مثابه معیارهای غیرمستقیم انتخاب کارآمد در برنامه‌های اصلاحی استفاده کرد. نشانگرهای بیوشیمیایی نشانگرهای پروتئینی مانند پروتئین‌های ذخیره‌ای و آیزوزایم‌ها را شامل هستند (Hames & Rikwood, 1990). با تجزیهٔ نشانگری و درنهایت ترسیم دندروگرام موقعیت ژنتیکی ژنوتیپ‌ها نسبت به یکدیگر، مشخص شده و انتخاب والدین برای آمیزش‌های بعدی برای آغاز برنامه‌های اصلاحی و ژنتیکی با اطمینان بیشتری انجام خواهد شد (Simioniuc *et al.*, 2002).

هدف از این بررسی ارزیابی سازوکار آنتی‌زنوز و تحمل برخی ژنوتیپ‌های بادمجان، شناسایی ژنوتیپ‌های با مقاومت نسبی بالاتر به منظور استفادهٔ

1. Integrated Pest Management

Archive of SID

www.SID.ir

کاربردی از آن‌ها در برنامه‌های مدیریت تلفیقی جمعیت‌های کنهٔ تارتن دونقطه‌ای و نیز تعیین ژنوتیپ‌های مطلوب برای هدف‌های بهنژادی با کمک روش الکتروفورز یک‌بعدی پروتئین‌ها SDS-PAGE به عنوان ترکیب‌های به‌دست‌آمده از سوخت‌وساز (متابولیسم) اولیهٔ گیاه است.

مواد و روش‌ها

بخش گلخانه‌ای

پرورش گیاه میزبان و کلنی کنهٔ تارتن دونقطه‌ای

در این پژوهش بذرهای یازده ژنوتیپ رایج بادمجان با اسامی بلک‌بیوتی، بلاکی، یلدا، لیدی، لیندا، لیما، کیم، برازجان، سیاه مشهد، محلی زابل و ۹۰۵ امامی، در آغاز در سینی‌های کشت نشاء بادمجان حاوی پیت‌موس و پرلیت کشت شدند. آنگاه سینی‌های نشاء، به منظور جلوگیری از آلودگی به حشرات آفت، زیر یک قفس توری با مش مناسب قرار گرفتند. نشاها در مرحلهٔ دو تا سه برگی به گلدان‌های پلاستیکی با قطر ۲۰ سانتی‌متر حاوی مخلوطی از خاک مزرعه، ماسه و کود دامی به نسبت ۱:۱:۱ انتقال و همچنان زیر قفس توری قرار داده شدند. به منظور پرورش انبوه کنهٔ تارتن دونقطه‌ای از گیاه لوبیا رقم دانشکده (رقم حساس) استفاده شد؛ به طوری که کنه‌های تارتن دونقطه‌ای پس از گردآوری از گلخانه‌های آلوده به مدت پنج نسل روی این گیاه پرورش داده شد و سپس در هر یک از آزمون‌ها استفاده شدند. آزمون‌ها در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه با نوسان دمای شبانه‌روز بین ۱۸ تا ۲۷ درجهٔ سلسیوس در اردیبهشت ۱۳۹۴ انجام شد.

بررسی سازوکار آنتی‌زنوز

به منظور بررسی ترجیح میزبانی کنهٔ تارتن دونقطه‌ای از روش Webster (1990) با اندکی تغییر استفاده شد. در این روش که به صورت آزمون انتخاب آزاد صورت گرفت، گلدان‌های حاوی بوته‌های بادمجان هم‌ارتفاع، در مرحلهٔ شش تا هشت برگی به طور تصادفی در پیرامون دایره‌ای به قطر ۱/۵۰ متر چیده شدند. به منظور نبود آلودگی بوته‌ها به آفات دیگر روی هر دایره با قفس توری پوشانده شد. سپس یک بوته لوبیای در حال خشکیدن که بیش از هزار عدد کنهٔ تارتن دونقطه‌ای روی آن وجود داشت در مرکز دایره قرار گرفت. پس از گذشت چهار هفته مراحل تخم، لارو، پورهٔ سن اول، پورهٔ سن دوم و بالغ روی هر ژنوتیپ شمارش شد.

همچنین به منظور بررسی ارتباط این سازوکار با برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک و ریخت‌شناختی (مورفولوژیک) گیاه بادمجان، تراکم کرک‌های[1] موجود در برگ ژنوتیپ‌های مورد بررسی با استفاده از استریومیکروسکوپ و واحدهای ۵ و ۱۰ میلی‌متر مربعی، برای هر ژنوتیپ در سه تکرار محاسبه شد. افزون بر این، از هر ژنوتیپ ده برگ به طور تصادفی انتخاب شده و با استفاده از دستگاه سبزینه (کلروفیل)سنج SPAD ساخت کشور ژاپن، میزان سبزینهٔ موجود در برگ هر ژنوتیپ اندازه‌گیری شد. در نهایت میزان آسیب وارد شده به وسیلهٔ کنه‌های تارتن دونقطه‌ای با روش درجه‌بندی عینی (مشاهده‌ای) و از روش نمره دادن از ۱ تا ۱۰ به آسیب واردشده روی هریک از ژنوتیپ‌ها بر پایهٔ روش Cardona *et al.* (2002) و سپس محاسبهٔ درصدی تعیین شد.

بررسی سازوکار تحمل

وجود سازوکار تحمل در ژنوتیپ‌ها یا رقم‌های مختلف یک گونه، اغلب با مقایسهٔ وزن خشک گیاهان آلوده و غیرآلودهٔ ژنوتیپ یا رقم مورد نظر تعیین می‌شود (Seyyedi-Sahebari, 2007). در این پژوهش به منظور بررسی سازوکار تحمل در هریک از ژنوتیپ‌های بادمجان، از روش Webster *et al.* (1987) با اندکی تغییر استفاده شد. به طوری که در مرحلهٔ پنج برگی، دو بوته با ارتفاع یکسان از هر ژنوتیپ و با سه تکرار انتخاب شد. آنگاه یکی از بوته‌ها با پانزده کنهٔ تارتن دونقطه‌ای بالغ آلوده شد. بوتهٔ دیگر نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. سپس هر یک از بوته‌ها با قفس‌های توری به طور جداگانه پوشانده شده و در طول مدت آزمون شمار کنه‌ها ثابت نگه داشته شد. این آزمون تا

1. Trichome

Archive of SID

www.SID.ir

زمانی که حساس‌ترین ژنوتیپ کاهش رشد محسوسی نشان دهد (حدود یک ماه)، ادامه یافت. پس از آن بر پایهٔ درصد کاهش وزن خشک و تر گیاهان آلوده نسبت به شاهد، شاخص تحمل برای هر ژنوتیپ بدست آمد. همچنین چون یکی از شاخص‌های تحمل در این آزمون مساحت برگ بود، مساحت هفتمین برگ هر ژنوتیپ در شرایط آلوده و شاهد مقایسه شد.

بخش آزمایشگاهی

در آغاز ۲۰۰ میلی‌گرم از برگ ژنوتیپ‌های بادمجان در آخرین روز بررسی آزمون آنتی‌زنوز درحضور نیتروژن مایع و در هاون چینی پودر شد. پس از آن به میکروتیوب‌های ۲ میلی‌لیتری انتقال داده شد. به هر یک از میکروتیوب‌ها حدود پنج برابر حجم نمونهٔ گیاهی بافر استخراج‌تری کلرواستیک اسید (TCA)[1] ۱۰ درصد، در استونی که در فریزر ۲۰- درجهٔ سلسیوس سرد شده بود، اضافه شد و با استفاده از میلهٔ پلاستیکی ویژهٔ استخراج، بافت له و چندین بار ورتکس شد. سپس این مخلوط به مدت یک ساعت در دمای ۲۰- درجهٔ سلسیوس قرار داده شد تا پروتئین‌ها رسوب کنند. پس از آن نمونه‌های پروتئینی به سانتریفیوژ یخچال‌دار (با دمای ۴ درجهٔ سلسیوس) انتقال داده شد و به مدت پانزده دقیقه با دور ۱۴۰۰۰ سانتریفیوژ شد. سپس مایع رویی با دقت، دور ریخته شد و به رسوب باقی‌مانده در میکروتیوب، محلول شستشو (۷۰میلی‌گرم DTT با استون به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر) اضافه شد. دروایهٔ (سوسپانسیون) به‌دست‌آمده به مدت ۲۰ دقیقه در یخچالی با دمای ۲۰- درجهٔ سلسیوس قرار داده شد تا پروتئین‌های موجود در میکروتیوب به طور کامل رسوب کنند. این عمل برای هریک از ژنوتیپ‌ها دو تا سه بار تکرار شد و درنهایت نمونه‌های پروتئینی در دمای آزمایشگاه خشک شد. ۵۰۰ µl بافر نمونه[2] شامل اوره، تیواوره، تریس، PMSF، DD H2O و DDT به ۱۰۰ mg از پودر خشک‌شده در هر لوله اضافه شد. سپس به مدت دو ساعت در دمای اتاق نگهداری و چندین بار تکان داده شد. پس از آن، مخلوط به‌دست‌آمده به مدت بیست دقیقه در دمای اتاق و دور ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ شد. در این مرحله مایع رویی جدا و رسوبات دور ریخته شد. از محلول رویی برای بررسی سنجش پروتئین (الگوی الکتروفورزی و میزان کمّی پروتئین‌های کل) استفاده شد. سنجش پروتئین با استفاده از روش Bradford (1976) انجام شد.

در این تحقیق برای الکتروفورز پروتئین بافت برگی بادمجان از روش SDS-PAGE (الکتروفورز در ژل پلی‌اکریل‌آمید در حضور سدیم دو دسیل سولفات) استفاده شد. SDS-PAGE در ژل جداکنندهٔ ۱۲/۵ درصد و ژل متراکم‌کنندهٔ ۵ درصد به روش Laemmli (1970) با بعضی تغییرپذیری‌ها انجام گرفت. میزان ۱۵ میکرولیتر از هر نمونه با غلظت یکسان روی ژل (با غلظت ۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) در چاهک بارگذاری شد. رنگ‌آمیزی ژل‌ها با استفاده از کوماسی‌بلو R-250 که معمول‌ترین رنگ برای رنگ‌آمیزی پروتئین‌ها است، انجام گرفت. نشانگر (مارکر)های پروتئینی مورد استفاده در این بررسی و وزن ملکولی آن‌ها شامل اوترانسفرین (۷۸ کیلودالتون)، آلبومین گاوی (۶۶ کیلودالتون)، اوآلبومین (۴۵ کیلودالتون)، اکتینیدین (۲۹ کیلودالتون)، بتا-لاکتوگلوبولین (۱۸ کیلودالتون) و لیزوزیم (۱۴ کیلودالتون) بود. این نشانگرها در تحقیقات پیشین استفاده قرار شده بودند (Kakaei *et al*., 2010; Kakaei *et al*., 2011).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌های کمی به‌دست‌آمده از بخش گلخانه‌ای پس از تبدیل‌های لازم، با آزمون تجزیهٔ واریانس یک طرفهٔ آنووا[3] تجزیه و تحلیل شدند. تیمارها در صورت مشاهدهٔ اختلاف معنی‌دار به روش توکی-بی[4] با استفاده از نرم‌افزار SPSS Ver 15 گروه‌بندی شدند. ژنوتیپ‌های مورد بررسی بادمجان در نهایت با استفاده از همهٔ شاخص‌های اندازه‌گیری‌شده به روش سلسله مراتبی Ward (1963) خوشه‌بندی شدند. در بخش مولکولی نیز جایگاه هر یک از باندهای پروتئینی روی ژل

1. Tricolor Acetic Acid
2. Lysis buffer = Sample buffer
3. One-way ANOVA
4. Tuckey-b

Archive of SID

www.SID.ir

از راه حرکت نسبی آن‌ها مشخص و به صورت اعداد کمی بیان شد. بر پایهٔ وجود (عدد یک) یا نبود هر باند (عدد صفر) در فاصله‌های مختلف، ماتریس دو طرفهٔ ژنوتیپ‌ها و متغیرها بدست آمد. تجزیهٔ خوشه‌ای بر پایهٔ ضریب همسانی جاکارد و از آزمون UPGMA با کمک نرم‌افزار NTSYS pc-2.02 و از روش تجزیه به محورهای اصلی برای تفسیر ماتریس فاصلهٔ ژنتیکی استفاده شد. برای تشخیص رابطهٔ میزان همبستگی بین سازوکار آنتی‌زنوز و داده‌های مولکولی با همدیگر از آزمون مانتل استفاده شد (Powel *et al.*, 1996). نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel (2007) رسم شد.

نتایج

بخش گلخانه‌ای

نتایج تجزیهٔ واریانس داده‌های به‌دست‌آمده از آزمون آنتی‌زنوز نشان داد که ژنوتیپ‌های مورد بررسی از نظر میانگین کنه‌های جلب‌شده در همهٔ مراحل سنی اختلاف معنی‌دار دارند. بیشترین شمار حشرات بالغ کنهٔ تارتن دونقطه‌ای در ژنوتیپ سیاه مشهد و کمترین میزان آن در ژنوتیپ لیندا مشاهده شد (P=۰/۰۰۰۱>، df=۱۰، F=۲۵/۳۴۳) (جدول ۱). همچنین در ژنوتیپ لیما بیشترین شمار و در ژنوتیپ لیندا کمترین شمار پوره‌های سن اول مشاهده شد (P=۰/۰۰۰۱>، df=۱۰، F=۱۴/۲۵). بیشترین و کمترین شمار پوره‌های سن ۲ نیز به ترتیب مربوط به ژنوتیپ‌های لیما و لیندا بود (P=۰/۰۰۰۱>، df=۱۰، F=۱۸/۳۷۷). بیشترین شمار لاروهای کنهٔ تارتن دونقطه‌ای در ژنوتیپ برازجان و کمترین آن در ژنوتیپ محلی زابل مشاهده شد (P=۰/۰۰۰۱>، df=۱۰، F=۱۸/۸۲۲). در نهایت بیشترین و کمترین شمار تخم گذاشته شده به ترتیب مربوط به ژنوتیپ‌های لیما و یلدا بود (P=۰/۰۰۰۱>، df=۱۰، F=۱۲/۸۱۸).

جدول ۱. مقایسهٔ میانگین شمار کنه‌های تارتن دونقطه‌ای مستقرشده روی یازده ژنوتیپ بادمجان در ارزیابی سازوکار آنتی‌زنوز

Table 1. Mean comparison of spider mites colones established on eleven genotypes of eggplants in the antixenosis mechanism evaluation

Genotypes	Egg	Larvae	Protonymphe	Deutonymphe	Adult
Borazjan	24 ± 7.23^{de}	56 ± 7.09 ^{a}	48.63 ± 4.63 ^{cd}	30.67 ± 3.52^{d}	115.67 ± 30.33 $^{d-f}$
Linda	15 ± 2.64^{e}	15.33 ± 2.72 ^{bc}	19.67 ± 4.09^{d}	25 ± 4.72^{d}	99 ± 8.88^{f}
Mahali-Bami	23 ± 2.88^{de}	9 ± 1.15 ^{c}	69.47 ± 2.40 ^{bc}	115.33 ± 15.23 ^{ab}	221. 67 ± 27.90 $^{c-e}$
905 Emami	31.33 ± 3.84^{b-e}	26.67 ± 2.02 ^{b}	49 ± 3.42^{cd}	77.33 ± 5.36 ^{bc}	231 ± 6.80^{c}
Siah-Mashhad	43.67 ± 3.52^{ab}	18.33 ± 4.09 ^{bc}	85.67 ± 4.91^{b}	96.67 ± 4.09^{ab}	494.67 ± 37.23^{a}
Kime	42.33 ± 2.33^{a-c}	24 ± 2.88^{bc}	66 ± 10.81 ^{bc}	47 ± 16.09 ^{cd}	224.33 ± 18.80^{de}
Black Beauty	21.67 ± 2.40^{de}	10.33 ± 1.45^{c}	58 ± 2.88 ^{bc}	36 ± 4.04^{d}	174.67 ± 16.47^{c-f}
Lima	56.67 ± 3.75 ^{a}	23.33 ± 1.33 ^{bc}	128.67 ± 12.78^{a}	129.67 ± 15.76^{a}	350.67 ± 36.25^{b}
Blacky	26.67 ± 1.33^{c-e}	22.33 ± 3.28^{bc}	51.67 ± 9.59^{b-d}	42.33 ± 2.60^{cd}	201.67 ± 14.83 $^{c-f}$
Yalda	20 ± 3.21^{e}	12.33 ± 3.28^{bc}	55 ± 9.50 ^{bc}	26 ± 2.88^{d}	132 ± 18.24^{c-f}
Lady	38 ± 2.08^{b-d}	12.67 ± 2.33 ^{bc}	63.33 ± 4.33 ^{bc}	36.67 ± 3.28^{d}	111 ± 19.13^{ef}

حرف‌های ناهمسان در هر ستون نشان‌دهندهٔ وجود اختلاف معنی‌دار است (آزمون توکی-بی).

Dissimilar letters in each column indicate a significant difference (Tukey-B).

نتایج نشان داد که ژنوتیپ‌ها از نظر درصد آسیب واردشده، میزان سبزینهٔ برگ و تراکم تریکوم‌ها اختلاف معنی‌داری دارند. بیشترین درصد آسیب واردشده در بررسی سازوکار آنتی‌زنوز مربوط به ژنوتیپ سیاه مشهد و کمترین درصد مربوط به ژنوتیپ لیندا بود (P=۰/۰۰۰۱>، df=۱۰، F=۹/۳۰۳). بیشترین میزان سبزینهٔ برگ در ژنوتیپ لیما و کمترین میزان آن در ژنوتیپ برازجان مشاهده شد (P=۰/۰۰۰۱>، df=۱۰، F=۵۰/۴۸۴). همچنین بیشترین و کمترین تراکم تریکوم‌ها به ترتیب در ژنوتیپ‌های بلاک-بیوتی و سیاه مشهد ثبت شد (P=۰/۰۰۰۱>، df=۱۰، F=۶۲/۰۷۳) (جدول ۲).

همبستگی پیرسون بین شمار حشرات آفت جلب‌شده در مراحل مختلف رشدی یک همبستگی مثبت و معنی‌دار در سطح احتمال ۱درصد بین مراحل بالغ با پوره‌های سن اول (۰/۶۱۰)، دوم (۰/۷۲۶) و تخم (۰/۶۱۶) و یک همبستگی منفی و معنی‌دار در سطح احتمال ۵درصد بین مرحلهٔ بالغ و تراکم تریکوم

Archive of SID

www.SID.ir

برگ ژنوتیپ‌های مختلف نشان داد (۰/۳۴۶-). همچنین بین شمار پوره‌های سن اول با پوره‌های سن دوم (۰/۶۶۸) و تخم (۰/۷۷۳)، پوره‌های سن دوم با تخم (۰/۵۳۳) یک همبستگی مثبت و معنی‌دار در سطح احتمال ۱درصد ثبت شد.

نتایج آزمون تحمل نشان داد که ژنوتیپ‌ها از نظر شاخص‌های تحمل درصد کاهش وزن خشک و تر اختلاف معنی‌دار دارند. اما هیچ تفاوت معنی‌داری از نظر کاهش درصد مساحت برگ پیش و پس از آلودگی با کنهٔ تارتن دونقطه‌ای بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی بادمجان مشاهده نشد. بیشترین و کمترین میزان درصد کاهش وزن‌تر به ترتیب در ژنوتیپ‌های سیاه مشهد و برازجان (P=۰/۰۰۰۱>، df=۱۰، F=۴۶/۲۴) به ثبت رسید. همچنین بیشترین میزان درصد کاهش وزن خشک در ژنوتیپ‌های سیاه مشهد و لیما و کمترین میزان آن در ژنوتیپ برازجان مشاهده شد (P=۰/۰۰۰۱>، df=۱۰، F=۴۷/۷۲۳) (جدول ۳).

جدول ۲. مقایسهٔ میانگین صفات مرتبط با سازوکار آنتی‌زنوز در ژنوتیپ‌های بادمجان مورد بررسی

Table 2. Mean comparison of traits associated with antixenosis mechanism in eggplant genotypes

Genotypes	Injury Percent	Chlorophyll Content	Trichum Density
Borazjan	30.33 ± 0.88^{cd}	26.70 ± 1.15^{d}	129.67 ± 12.44 ^{e}
Linda	20.67 ± 0.33 ^{d}	36.73 ± 0.39 ^{b}	62.33 ± 2.90^{e}
Mahali-Bami	40.67 ± 0.33 $^{b-d}$	35.90 ± 0.49 ^{b}	177.67 ± 5.45 ^{a}
905 Emami	60.00 ± 0.57^{a-c}	36.73 ± 0.44^{b}	65.67 ± 4.09^{de}
Siah-Mashhad	80.00 ± 0.57^{a}	33.10 ± 0.25 ^{c}	53.67 ± 2.60 ^{e}
Kime	70.00 ± 0.00^{b}	36.00 ± 0.37 ^{b}	56.00 ± 5.56^{e}
Black Beauty	40.67 ± 0.66^{b-d}	31.36 ± 0.37 ^{c}	206.0 ± 4.72^{a}
Lima	70.33 ± 0.66 ^{ab}	41.03 ± 0.66^{a}	95.67 ± 4.48^{cd}
Blacky	50.67 ± 0.33^{a-c}	33.36 ± 0.62 ^{c}	73.67 ± 3.52^{cde}
Yalda	40.00 ± 0.57^{cd}	37.20 ± 0.23 ^{b}	101.67 ± 9.20 ^{bc}
Lady	40.33 ± 0.66 ^{cd}	39.67 ± 0.53 ^{a}	178.67 ± 12.60^{a}

حرف‌های ناهمسان در هر ستون نشان‌دهندهٔ وجود اختلاف معنی‌دار است (آزمون توکی-بی).

Dissimilar letters in each column indicate a significant difference (Tukey-B).

جدول ۳. میانگین (± خطای استاندارد) شاخص‌های تحمل یازده ژنوتیپ بادمجان نسبت به کنهٔ تارتن دونقطه‌ای

Table 3. The mean (± SE) of tolerance indices of eleven genotypes of eggplants to the colone of spider mite

Genotypes	Measure of leaf area decrease	Measure of wet weight decrease	Measure of dry weight decrease
Borazjan	0.54 ± 0.14^{a}	0.72 ± 0.22^{f}	1.34 ± 0.27^{e}
Linda	0.75 ± 0.17^{a}	3.87 ± 0.05 ^{e}	4.44 ± 0.14 ^{cd}
Mahali-Bami	0.98 ± 0.31 ^{a}	5.39 ± 0.40^{cd}	5.75 ± 0.17^{b}
905 Emami	2.13 ± 0.24^{a}	5.69 ± 0.10^{bc}	5.50 ± 0.10 ^{bc}
Siah-Mashhad	2.26 ± 0.17 ^{a}	8.10 ± 0.34^{a}	7.42 ± 0.25 ^{a}
Kime	1.47 ± 0.63^{a}	6.13 ± 0.10^{bc}	5.69 ± 0.28 ^{b}
Black Beauty	0.75 ± 0.28 ^{a}	4.32 ± 0.32 ^{de}	4.21 ± 0.08^{d}
Lima	2.63 ± 0.20^{a}	6.70 ± 0.12 ^{b}	7.00 ± 0.18 ^{a}
Blacky	0.95 ± 0.39 ^{a}	5.53 ± 0.25 ^{bc}	5.33 ± 0.20 ^{bc}
Yalda	2.53 ± 1.18 ^{a}	3.98 ± 0.47 ^{e}	3.54 ± 0.42^{d}
Lady	1.53 ± 0.89^{a}	4.08 ± 0.31 ^{e}	4.52 ± 0.32^{cd}

حرف‌های ناهمسان در هر ستون نشان‌دهندهٔ وجود اختلاف معنی‌دار است (آزمون توکی-بی).

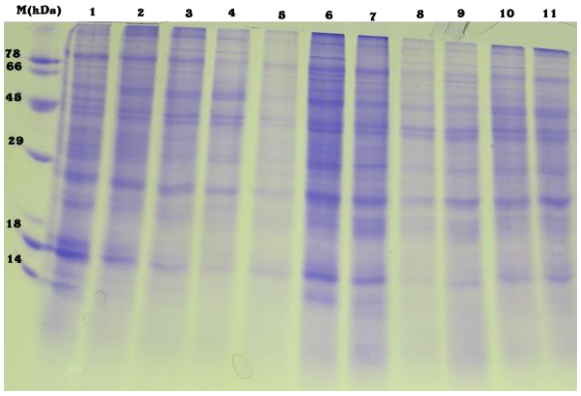
Dissimilar letters in each column indicate a significant difference (Tukey-B).

بخش آزمایشگاهی

شمار بیست باند در یازده ژنوتیپ بادمجان مورد بررسی مشاهده شد. مقایسهٔ شمار باند در میان ژنوتیپ‌های مختلف بادمجان نشان می‌دهد که بیشترین شمار باند پروتئینی مربوط به ژنوتیپ‌های برازجان و لیندا و کمترین شمار مربوط به ژنوتیپ‌های سیاه مشهد و لیما بود. اگرچه باندهای پروتئینی مشترک زیادی درون جمعیت‌های یادشده وجود داشت، ولیکن باندهای اختصاصی نیز مشاهده شد که ویژهٔ هر ژنوتیپ بودند (شکل ۱). برای تشریح الگوی تمایز، فاصلهٔ ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها محاسبه شد. میزان فاصلهٔ ژنتیکی از ۰/۴۰۰ تا ۰/۹۳۳ متغیر بود (جدول ۳). برای تشریح الگوی تمایز جمعیت‌ها از روش UPGMA نیز استفاده شد. در دندروگرام به‌دست‌آمده، همهٔ ژنوتیپ‌ها به سه خوشهٔ عمده تقسیم شدند (شکل ۲). این تقسیم‌بندی سازگار با گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها توسط نمودار به‌دست‌آمده از تجزیه به محورهای اصلی بود (شکل ۳).

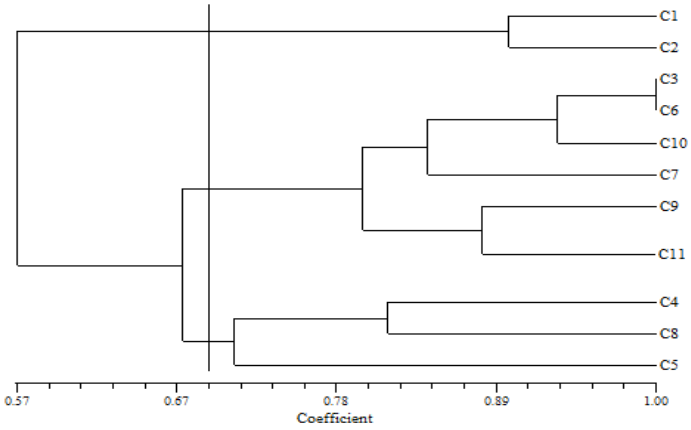
Archive of SID

www.SID.ir



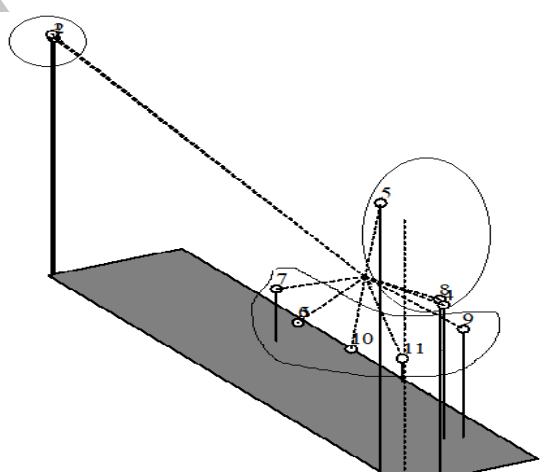
شکل ۱. باندهای به‌دست‌آمده از الکتروفورز پروتئین‌های برگ ژنوتیپ‌های بادمجان در بررسی سازوکار آنتی‌زنوز (اسامی ژنوتیپ‌ها بر پایهٔ شماره از ۱ تا ۱۱ شامل برازجان، لیندا، محلی زابل، ۹۰۵ امامی، سیاه مشهد، کیم، بلاک-بیوتی، لیما، بلاکی، یلدا و لیدی است).

Figure 1. The bands resulting from electrophoresis of eggplant genotypes in the antixenosis mechanism evaluation (Genotypes names are based on numbers from 1 to 11 including Borazjan, Linda, Mahali-Zabol, 905 Emami, Siah-Mashhad, Kim, Black Beauty, Lima, Blacky, Yalda, and Lady).



شکل ۲. نمودار خوشه‌ای به‌دست‌آمده از تحلیل داده‌های الکتروفورزی بر پایهٔ باندهای پروتئینی برگ ۱۱ ژنوتیپ مورد بررسی بادمجان نسبت به کنهٔ تارتن دو لکه‌ای با روش UPGMA. (گروه‌بندی در فاصلهٔ ۰/۷۱ انجام شد.)

Figure 2. Cluster analysis of the electrophoresis gel data based on the leaves protein bands of eleven eggplant genotypes, resistant to tow spotted spider mite using UPGMA (Grouping was done at a distance of 0.71).



شکل ۳. نمودار به‌دست‌آمده از تجزیه به محورهای اصلی بر پایهٔ پروتئین‌های برگ ۱۱ ژنوتیپ مورد بررسی بادمجان نسبت به کنهٔ تارتن دو لکه‌ای

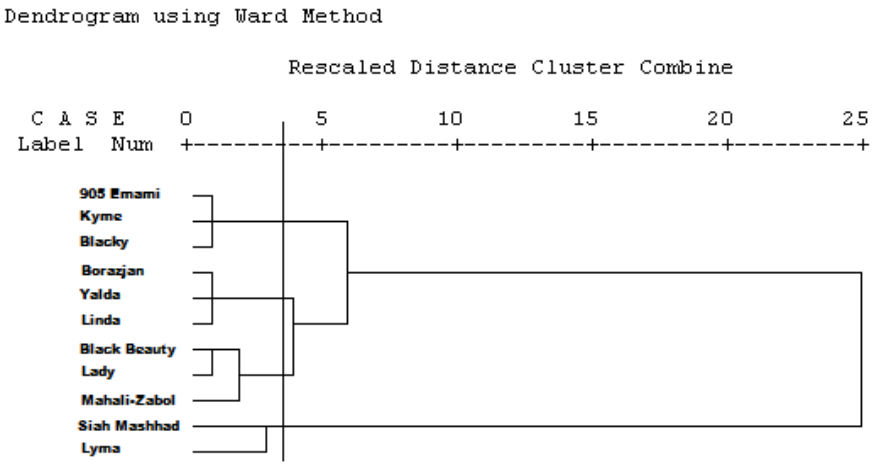
Figure 3. Diagram obtained from the main axes analysis based on leaf proteins in eleven eggplant genotypes resistant to two-spotted spider mite

Archive of SID

www.SID.ir

همچنین نتایج یک همبستگی منفی و معنی‌دار (r=-۰/۵۷۴) بین داده‌های بخش گلخانه‌ای و داده‌های به‌دست‌آمده از الکتروفورز یک بعدی نشان داد.

به طور کلی و بر پایهٔ نمودار خوشه‌ای به‌دست‌آمده از بررسی سازوکارهای آنتی‌زنوز و تحمل و نیز بیان پروتئین‌ها (شکل ۴)، ژنوتیپ‌های بادمجان در چهار سطح مقاومتی به صورت زیر دسته‌بندی شدند: ژنوتیپ‌های برازجان، یلدا و لیندا در گروه ژنوتیپ‌های مقاوم، ژنوتیپ‌های بلاک-بیوتی، لیدی و محلی زابل در گروه ژنوتیپ‌های نیمه‌مقاوم، ژنوتیپ‌های ۹۰۵ امامی، کیم و بلاکی در گروه ژنوتیپ‌های نیمه‌حساس و ژنوتیپ‌های سیاه مشهد و لیما در گروه ژنوتیپ‌های حساس. گروه‌بندی تجزیهٔ خوشه‌ای به صورت ۱۰۰ درصد، تأیید تجزیهٔ تابع تشخیص شد.



شکل ۴. نمودار به‌دست‌آمده از تجزیهٔ خوشه‌ای سازوکارهای آنتی‌زنوز، تحمل و بیان پروتئین‌های ۱۱ ژنوتیپ مورد بررسی بادمجان نسبت به کنهٔ تارتن دونقطه‌ای بر پایهٔ روش Ward (1963)

Figure 4. Dendrogram obtained from cluster analysis of antixenosis mechanisms, tolerance and protein expression of eleven genotypes of eggplants resistant to two-spotted spider mite colones based on the method of Ward (1963)

بحث

تفاوت معنی‌دار در میزان جلب مراحل مختلف کنه‌های تارتن دونقطه‌ای روی ژنوتیپ‌های مختلف بادمجان می‌تواند به علت اختلاف در نوع و میزان مواد متصاعدشده، ویژگی‌های برگ هر یک از ژنوتیپ‌ها و همچنین ویژگی‌های درونی کنهٔ تارتن دونقطه‌ای باشد (Shararbar, 2014). Baradaran-Anaraki (2007) در بررسی مقاومت نه رقم بادمجان نسبت به کنهٔ تارتن دونقطه‌ای در شرایط مزرعه‌ای منطقهٔ ورامین، شمار کنه‌هایی که روی رقم‌های مختلف جلب شدند اختلاف معنی‌دار داشتند. آن‌ها علت این تفاوت را اختلاف بین مواد برگ، اندازهٔ برگ و شمار پرزهای برگ که به‌احتمال در جذب کنه‌های سرگردان در هوا نقش داشتند، دانستند. در این بررسی درصد آسیب کنهٔ تارتن دونقطه‌ای روی ژنوتیپ‌های مختلف متفاوت بود که می‌تواند به علت تراکم متفاوت کنه‌های تارتن روی ژنوتیپ‌ها باشد. Baradaran-Anaraki (2007)، تفاوت در میزان آسیب و زیان کنهٔ تارتن روی رقم‌های مختلف بادمجان را به عللی مانند زودرس یا دیررس‌بودن محصول بادمجان، طول دورهٔ رشد رقم بادمجان و شرایط مناسب گیاه بادمجان برای فعالیت کنه نسبت دادند. از آنجا که در این بررسی بیشترین درصد آسیب و همچنین بیشترین شمار کنه‌های بالغ جلب‌شده در ژنوتیپ سیاه مشهد دیده شد، با جایگزینی این ژنوتیپ با دیگر ژنوتیپ‌های متحمل، می‌توان کنترل زراعی مناسب‌تری برای کنهٔ تارتن دونقطه‌ای ایجاد کرد.

در بررسی دیگری که Jaydeb *et al.* (1995)، در کشور هند روی رقم‌های مقاوم بامیه نسبت به کنهٔ تارتن دونقطه‌ای انجام دادند، تنها یکی از رقم‌های جمعیت کنه جلب‌شده و آسیب کمتری نسبت به دیگر رقم‌ها نشان داد. در این تحقیق نیز ژنوتیپ لیندا کمترین شمار کنه‌های تارتن جلب‌شده و نیز کمترین

Archive
www.SID.ir

درصد آسیب واردشده را داشت. Baradaran-Anaraki (2007)، شمار و تراکم تریکوم برگ و فیزیولوژی برگ را عامل‌های بازدارندهٔ دیگری بر فعالیت جمعیت کنهٔ تارتن دونقطه‌ای دانستند. در این بررسی همبستگی منفی و معنی‌داری بین تراکم تریکوم ژنوتیپ‌های مختلف بادمجان و میزان جلب کنه‌های بالغ می‌تواند نشان‌دهندهٔ این احتمال باشد که کنه‌های تارتن دونقطه‌ای تراکم زیاد تریکوم برگ را برای استقرار خود روی بوته نامناسب دانسته‌اند. این نتیجه‌گیری با نتایج Zhang *et al.*, (1993)، روی مقاومت رقم‌های پنبه در شرایط گلخانه‌ای همخوانی داشت که در آن رقم‌هایی که کرک‌ها و سبزینهٔ کمتری داشتند، حساس‌تر بودند.

تفاوت نداشتن معنی‌دار در ژنوتیپ‌ها از نظر درصد کاهش مساحت برگ و در مقابل وجود تفاوت معنی‌دار بین ژنوتیپ‌ها از نظر کاهش وزن خشک و تر، به‌احتمال می‌تواند به این علت باشد که سازوکار تحمل بیشتر از راه جلوگیری از کاهش وزن کلی بوته‌های بادمجان تأثیرگذار بوده است. به عبارت دیگر، تفاوت نداشتن معنی‌دار در ژنوتیپ‌ها از نظر درصد کاهش مساحت برگ، می‌تواند مربوط به عللی غیر از سازوکار تحمل ازجمله ویژگی‌های ریخت‌شناختی هر ژنوتیپ باشد.

در این بررسی گوناگونی ژنتیکی ژنوتیپ‌های مختلف بادمجان به عنوان ضرورتی اجتناب‌ناپذیر برای برنامه‌های اصلاحی تحمل به آفت بررسی شد. نتایج نشان از وجود تنوع‌ژنتیکی شایان‌ملاحظه‌ای در بین ژنوتیپ‌های مختلف بادمجان داشت. اختلاف موجود در فراوانی باندها در افراد و درپی آن در ژنوتیپ‌های مختلف ناشی از تفاوت در شمار ژن‌های کدکنندهٔ پروتئین‌های برگ است (Gardiner & Forde, 1988). افزایش اساس ژنتیکی برای اصلاح ژنتیکی می‌تواند با کاربرد سیستماتیکی ژرم‌پلاسم که الگوی پروتئینی متفاوتی داشته و ویژگی‌های کمی مطلوب‌تر به‌دست‌آمده باشد.

همبستگی منفی بین داده‌های گلخانه‌ای و داده‌های مولکولی می‌تواند بیانگر این موضوع باشد که به‌احتمال برخی ژنوتیپ‌های بادمجان مورد بررسی، در سطح مولکولی و پروتئینی نسبت به کنهٔ تارتن دولک‌های از خود مقاومت نشان داده‌اند. البته این موضوع نیازمند بررسی در سطح الکتروفورز دوبعدی است که نوع و نقش پروتئین نیز طی آن مشخص می‌شود. Shahnejate-bushehri *et al.* (2005) در بررسی مقایسهٔ فاصلهٔ ژنتیکی و ریخت‌شناختی با هتروزیس بر پایهٔ نشانگر RAPD به کمک آزمون مانتل در دورگ (هیبرید)های جو، بین روش‌های ریخت‌شناختی و ملکولی هیچ همسویی را مشاهده نکردند.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی نتایج این بررسی نشان داد که ژنوتیپ‌های برازجان، لیندا و یلدا با بروز سطوحی از مقاومت، ژنوتیپ‌های امیدبخشی بوده و کشت آن‌ها با بررسی‌های بیشتر و نیز با در نظر گرفتن دیگر نکات به‌زراعی و فنی برای رویارویی با کنهٔ تارتن دونقطه‌ای توصیه می‌شود. در ضمن می‌توان از تنوع موجود در ژنوتیپ‌ها از نظر باندهای پروتئینی، به عنوان روشی مکمل در ارزیابی مقاومت آفت، در برنامه‌های بهنژادی برای انتخاب والدین با در نظرگرفتن دیگر جنبه‌های اصلاحی بهره‌مند شد.

سپاسگزاری

از مسئولان مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی دانشگاه علوم‌پزشکی کرمانشاه جناب آقای دکتر علی مصطفایی و همهٔ عزیزانی که نویسندگان را برای اتمام این گزارش یاری کردند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

1. Baradaran-Anaraki, P., Arbabi, M. & Shafiei-Ajpishe, R. (2007). Study on Different Egg-plant cultivars for Infestation to Two Spotted Spider Mite *(Tetranychus Urticae* complex) in Varamin rigion. *Seed and Plant*, 23, 15-29. (in Farsi)
2. Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein by binding. *Analysis Biochemistry*, 72, 248-254.
3. Carbonaro, M. A., Moreland, D. E., Edg, V. E., Matoyama, N., Rock, G. C. & Dauterman, W. C. (1986). Studies of the mechanisms of cyhexatin resistance in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Economic Entomology*, 79, 579-580.

Archive of SID

www.SID.ir

4. Cardona, C., Feri, A., Bueno, J. M., Diaz, J., Gu, H. & Dorn, S. (2002). Resistance to *Thripspalmi*in bean. *Journal of Economic Entomology*, 95, 1066-1073.
5. Gardiner, S. E. & Forde, M. B. (1988). Identification of cultivars and species of pasture legumes by sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel genetic diversity in Black gram (*Vigna mungo* L. Hepper). *Field Crops Research*, 69, 183-190.
6. Hames, B. D. & Rikwood, D. (1990). *Gel electrophoresis of proteins, a practical approach*, (2nd ed), Oxford University Press. U.K.
7. Jaydeb, G., Mukherji, A. B. & Sarkar, P. K. (1995). Assessment of losses of behind against red spider mite. *Environment and Ecology*, 14(2), 480-81.
8. Kakaei, M., Kahrizi, D. & Mostafaie, A. (2010). Study on powdery mildew disease related proteins expression in winter wheat cultivars via SDS-PAGE. *Biharean Biologist*, 4(2), 169-171.
9. Kakaei, M. & Kahrizi, D. (2011). Study of seed proteins pattern of *Brassica napus* varieties via resistance sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel resistance electrophoresis. *International Research Journal of Biotechnology*, 2(1), 26-28.
10. Khanjani, M. (2009). *Field crop Pests in Iran (Insect & Mites)*. Bu-Ali Sina University Press. 467pp. (in Farsi)
11. Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of Bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680-685.
12. Mantel, N. (1967). The detection of disease clustering and a generalized regression approach, *Cancer Research*, 27, 209-220.
13. Maxwell, F. G. & Jenning, P. R. (1980). *Breeding plant resistant to Insects*. (eds). John Wiley and Sons, New York.
14. Powel, W., Morgant, M., Andre, C., hanfey, M., Vogel, J., Tingey, S. & Rafalski, A. (1996). The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (micro satellite) markers for germplasm analysis .*Molecular Breeding*, 2, 225-238.
15. Prischmann, D. A., James, D. G., Wright, L. C., Teneyck, R. D. & Snyder, W. E. (2005). Effects of chlorpyrifos and sulfur on spider mites (Acari: Tetranychidae) and their natural enemies. *Biological Control*, 33, 324-334.
16. Sedaratian, A., Fathipour, Y. & Mohairamipour, S. (2009). Evaluation of resistance in 14 soybean cultivars to *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Pest Science*, 82, 163-170. (in Farsi)
17. Seyyedi-Sahebari, F. (2007). Evaluation of reaction of alfalfa ecotypes to alfalfa weewil, *Hypera postica* Gyll. (Coloptera: Curculionidae). *Iranian Plant Protection Research Institute*. 60 pp. (in Farsi)
18. Shahnejate-bushehri, A. A., Torabi, S., Omidi. M. & Ghannadha, M. R. (2005). Comparison of genetic and morphological distance with heterosis with RAPD Markers in hybrids of Barley. *International Journal of Agriculture and Biology*, 7, 592- 595. (in Farsi)
19. Shararbar, H. (2014). *Resistance of some eggplant cultivars and landraces to Tutaabsoluta (Lep., Gelechiidae)*. M. Sc. Thesis, Bu-Ali Sina University of Hamadan, Hamadan- Iran.
20. Khanamani, M. (2012). *The impact of different varieties of eggplant on biological parameters of two-spotted spider mites and predatory mite (Typhlodromus bagdasarjani)*. M. Sc. Thesis, Tarbiat-Modares University of Tehran, Tehran, Iran.
21. Simioniuc, D., Uptmoor, R., Friedt, W. & Ordon, F. (2002). Genetic diversity and relationship among pea cultivars revealed by RAPDs and AFLPs. *Plant Breeding*, 121, 429-435.
22. Smith, C. M. (1989). *Plant resistance to insects, a fundamental approach*. John Wiley & Sons. New York.
23. SPSS. (2008). *SPSS base 15.0 User's guide*. *SPSS*, Chicago.
24. Steinite, I. & Ievinsh, G. (2002). Wound-induced responses in leaves of strawberry cultivars differing in susceptibility to spider mite. *Journal of Plant Physiological*, 159, 491-497.
25. Ward, J. H. (1963). Hierarchical grouping to optimize an objective function. *Journal of the American Statistical Association*, 58, 236-244. [On line]. Available on: http://iv.slis.indiana.edu/sw/data/ward.pdf.
26. Webester, J. A. (1990). Resistance in triticale to the Russian wheat aphid. *Journal of Economic*
27. *Entomology*, 83(2), 1091-1095.
28. Webester, J. A., Straks, K. R. & Burton, R. L. (1987). Plant resistance studies with *Diuraphis noxia*, a new United States wheat pest. *Journal of Economic Entomology*, 80, 944-949.
29. Wrensch, D. L. (1985). Reproductive parameters. In: Spider Mites; Their Biology, Natural Enemies and Control, W. Helle and M.W. Sabelis (eds), 1, 165-170. Elsevier, Amsterdam.
30. Zhang, J. W., Luckey, C. & Lazarow, P. B. (1993). Three peroxisome protein packaging pathways suggested by selective permeabilization of yeast mutants defective in peroxisome biogenesis. *Journal of Molecular Biologic Cell*, 4(12), 1351-13.

Archive of SID

www.SID.ir