Archive of SID

آفات و بیماریهای گیاهی

جلد ۶۸، شماره ۱ و ۲، بهمن ۱۳۷۹

آسیب‌شناسی و بررسی تاثیر ویروس NbNPV روی سنین مختلف لاروی پروانهٔ برگ‌خوار چغندر قند (کارادرینا) *Spodoptera exigua* Hb. (Lep., Noctuidae)

Histopathology and study of the MbNPV effect on different larval instars of Beet armyworm, *Spodoptera exigua* Hb. (Lep., Noctuidae)

شهاب منظری ، محمد حسن صفر علیزاده ، عزیز خرازی پاکدل ، علی‌اصغر پورمیرزا

موسسه تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی ، دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه ، دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران

چکیده

ویروس MbNPV از قدرت بیماریزائی بالائی در لاروهای پروانه برگ‌خوار چغندر قند برخوردار است و می‌تواند عامل مهمی در کنترل آن به شمار آید. در آلودگی سطحی دسته‌های تخم این پروانه، تمام لاروهای به دست آمده از تفریخ تخم‌ها در روز سوم از بین رفتند. میزان LC_{50} برای لاروهای سن دوم تغذیه کرده از غذای مصنوعی آلوده به دزهای مختلف ویروس، ۱۲/۵۸ پلی هدر بر میلی متر مربع سطح مادهٔ غذائی و زمان لازم برای ایجاد تلفات ۵۰٪ (LT 50) با دز ۶۳/۱۰ پلی‌هدر بر میلی‌متر مربع سطح مادهٔ غذائی برای همین سن لاروی، ۶/۱۲ روز محاسبه گردید. تلفات ایجاد شده با دز اخیر برای لاروهای سن اول تقریباً ده برابر لاروهای سن پنجم بود.

در برش‌های عرضی تهیه شده از بدن لاروهای سن چهارم به فواصل زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از آلودگی، در مقایسه با شاهد تغییرات هیستوپاتولوژیک مشخص در میکروسکوپ نوری مشاهده نگردید. بزرگ شدن هستهٔ سلول‌های اپیدرم و بافت چربی، همچنین ایجاد تغییرات محسوس در حالت ظاهری شبکهٔ کروماتین (تشکیل استرومای ویروژنیک) عمدتاً از روز سوم پس از آلودگی قابل رؤیت بود. همزمان با پیشرفت بیماری، اشغال کامل هستهٔ سلول‌ها با کریستالهای چند وجهی ویروس و به دنبال آن پارگی دیوارهٔ هسته و سلول اتفاق افتاد.

واژه‌های کلیدی: کارادرینا، ویروس NbNPV، آسیب‌شناسی

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

چغندر قند یکی از گیاهان مهم زراعی ایران می‌باشد به طوریکه سالیانه چندین هزار هکتار از اراضی کشور زیر کشت این گیاه قرار می‌گیرد. در فهرست آفات چغندر قند ایران بیش از ۱۶۹ گونه نام برده شده (Khayri, 1989) که پروانه برگ‌خوار چغندر قند، *Spodoptera exigua* Hb. (Lep., Noctuidae) یکی از مهمترین و مضرترین آن‌هااست و از حدود سال ۱۳۱۰ که کشت این گیاه در کشور ما رواج یافته، بارها مورد هجوم و صدمات سنگین این آفت قرار گرفته است.

این مطالعه در راستای اهمیت روز افزون کنترل ویرولژیک آفات نباتی به ویژه در پروانه‌های برگ‌خوار انجام گرفت. اشاره به مطالعات انجام شده در کشورهای مختلف اهمیت چنین بررسی‌هائی را نشان می‌دهد.

مطالعات David (1975)، Tinsley (1977,1979) و Maramorosch & Sherman (1985) آسیب‌شناسی بافت‌های مختلف لارو پروانه‌ها که آلوده به NPV (nuclear polyhedrosis virus) بوده‌اند نشان داده است که تأثیر بر سلول‌های رودهٔ لاروها در مقایسه با سایر بافت‌ها کمتر جلب توجه می‌کند به طوریکه با میکروسکپ نوری تغییرات بافتی مشخصی به چشم نمی‌خورد. ناحیه سلول‌های آلوده کاملاً محدود و متمرکز بوده و به این جهت به راحتی مشخص نمی‌شود. پس از ورود نوکلئوکپسیدها (nucleocapsid) به درون هستهٔ سلول‌های استوانه‌ای رودهٔ میانی، تغییراتی در شیرهٔ هسته (nucleoplasm) ظاهر می‌گردد. ساختمانهای حفره مانند، اجسام کروی غیر قابل نفوذ به الکترون و شیره هستهٔ دانه دانه شده به همراه نوکلئوکپسیدهای تازه تشکیل شده در هسته‌های آلوده دیده می‌شوند، اما شبکهٔ توری مشخصی از ویروپلاسم (Viroplasm) وجود ندارد و در صورت حضور به روشنی ویروپلاسم بافت‌های هموسل (haemocoel) نیست. تفاوت مهم تکثیر ویروس در سلول‌های استوانه‌ای رودهٔ میانی و در سلول‌های سایر بافت‌های لاروی آن است که در سلول‌های استوانه‌ای رودهٔ میانی، پیکره‌های ویروسی (Virions) توسط پروتئین چندوجهی احاطه نمی‌شود. Volkman در سال ۱۹۸۶ اظهار داشته است که پیکره‌های ویروسی تازه تولید شده، از غشاء پایه به داخل هموسل نفوذ نموده و انتشار سیستمیک و آلودگی بافت‌های دیگر را میسر می‌سازند. Engelhard و همکاران در سال ۱۹۹۴ اظهار می‌دارند که عبور پیکره‌های ویروسی از basal lamina از طریق سیستم تراشه‌ای صورت می‌گیرد.

در بافت‌های هموسل، رشد غیر عادی هسته‌ها (nuclear hypertrophy) و تشکیل استرومای ویروژنیک (virogenic stroma)، دیده می‌شود و تجمع پیکره‌های ویروسی میله‌ای شکل از مادهٔ

www.SID.ir

Archive of SID

رشته‌های استرومائی قابل مشاهده است. به نظر می‌رسد که رشته‌های کروماتین تمامی اجزاء نوکلئوکپسید، از جمله DNA را تولید می‌کنند. ساخته شدن پروتئین کریستال چند وجهی (polyhedrin) در ریبوزومها اتفاق می‌افتد و با کاهش مونومرهای پروتئین محدود می‌گردد (Maramorsch & Sherman, 1985).

روش بررسی

لاروهای پروانهٔ کارادرینا از مزارع چغندر قند اطراف شهرستان میاندوآب جمع‌آوری گردیده و در شرایط کنترل شدهٔ آزمایشگاه با دمای ۱ ± ۲۷ درجهٔ سانتی گراد، رطوبت نسبی ۵ ± ۶۰ درصد و ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی روی محیط غذائی پیشنهادی توسط Shorey & Hale در سال ۱۹۶۵، پرورش داده شدند. در این فرمول غذائی فرمالدئید ۴۰٪ به دلیل اثر تخریبی روی ویروس چند وجهی هسته‌ای کنار گذاشته شد (Ignoffo & Garcia, 1968). تغذیهٔ پروانه‌ها با محلول ۱۰٪ ساکارز در آب صورت گرفته و کاغذ واتمن شمارهٔ ۹۱ برای بستر تخم ریزی پروانه‌ها بکار رفت.

برای تهیهٔ سوسپانسیون مادر ویروس، روش Daoust & Roome (1974) مورد استفاده قرار گرفت. ویروس MbNPV (*Mamestra brassicae* nuclear polyhedrosis virus) با نام تجارتی Mamestrin، مادهٔ اولیهٔ آلوده سازی لاروها بود که ویروسهای حاصل از دومین گذر (passage) از بدن لاروها به عنوان سوسپانسیون مادر انتخاب و غلظت آن بوسیلهٔ لام گلبول شمار (haemocytometer)، $۲/۱۶ \times ۱۰^{۸}$ پلی هدر/سانتی‌متر مکعب، تعیین گردید. به منظور بررسی تأثیر دزهای مختلف ویروس بر روی لاروهای کارادرینا و محاسبهٔ LC_{50} از لاروهای سن دوم این پروانه استفاده شد. برای اینکار تعداد نسبتاً زیادی قوطی‌های پلاستیکی شفاف فیلم عکاسی به ارتفاع ۴۶ میلی‌متر بکار رفت. سطح مادهٔ غذائی موجود در داخل قوطی‌ها ۶۸۰ میلی‌متر مربع و ارتفاع آن ۸ میلی‌متر بود. تیمارها شامل ۶ دز لگاریتمی از ویروس به مقادیر ۱/۵۸، ۳/۹۸، ۱۰/۰۰، ۲۵/۱۲، ۶۳/۱۰، ۱۵۸/۴۹ پلی هدر/ میلی متر مربع سطح مادهٔ غذائی بود. علظت‌های مختلف سوسپانسیون ویروسی طوری تهیه شدند که چنانچه ۰/۱ سانتی‌متر مکعب از آنها روی سطح مادهٔ غذائی پخش شود، تعداد پلی هدر مورد نظر روی هر میلی‌متر مربع از آن قرار گیرد. این کار به کمک میکرواپلیکاتور انجام شد و با یک پیپت پاستور که نوک آن به شکل دلخواه فرم داده شده بود، سوسپانسیون‌های ویروسی به طور یکنواخت و بدون ایجاد خراش و شکستگی بر روی سطوح مادهٔ غذائی، پخش گردید. پس از خشک شدن سطوح مادهٔ غذائی ویروس پاشی شده، یک لارو سن

www.SID.ir

Archive of SID

دوم توسط قلم موی مرطوب داخل هر یک از قوطی‌ها منتقل شد. برای رعایت تجانس فیزیولوژیک، لاروها از دسته تخم‌هائیکه تعداد تخم زیادی داشته و تاریخ تفریخ آنها همزمان بود انتخاب گردید. نمونه‌گیری از مرگ و میر لاروها هر ۲۴ ساعت انجام شد و برای اطمینان بیشتر، فروتی‌های تهیه و رنگ‌آمیزی شده با آبی متیلن از همولنف لاروهای مرده، مورد بررسی‌های میکروسکپی قرار گرفت.

مطالعات آسیب‌شناسی بافت‌ها بر روی لاروهای سن چهارم انجام شد. این لاروها با غذای مصنوعی آلوده به دز ۱۰۰۰ پلی هدر/ میلی متر مربع سطح مادهٔ غذائی، تغذیه شدند. در هر ۲۴ ساعت، ۳-۲ لارو جدا و بلافاصله در داخل محلول تثبیت کننده (fixative) بوئن آبی قرار گرفتند و پس از ده روز برشهای ۵، ۷، ۸ و ۱۰ میکرونی از آنها تهیه و با استفاده از روش Vago & Amargier (1963) رنگ‌آمیزی شدند.

نتیجه و بحث

الف - آسیب‌شناسی بافت‌ها:

در برشهای عرضی لاروهائیکه به فواصل زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از آلودگی، با میکروسکپ نوری بررسی شدند، تغییرات مشخصی از نظر بافت‌شناسی مشاهده نگردید و اختلاف محسوسی بین اندازهٔ هسته و حالت ظاهری شبکهٔ کروماتین سلول‌های بافت چربی و سایر بافت‌های لاروهای آلوده و شاهد دیده نشد. رشد غیر عادی هستهٔ سلول آلوده اولین علامت آلودگی است و با تغییراتی در شیرهٔ هستهٔ سلول‌ها همراه است که در بررسی حاضر عمدتاً از سومین روز پس از آلودگی اتفاق افتاد. این تغییرات شامل انقباض شبکهٔ کروماتین بود که به صورت لکهٔ تیره رنگی در داخل هسته قرار داشت و به تدریج از اندازهٔ آن کاسته شد تا اینکه کل هسته توسط کریستال‌های چند وجهی ویروس اشغال گردید. در این مرحله پلی هدرهای تازه تشکیل شده در اطراف این تودهٔ تیره رنگ دیده شد. مراحل تکامل ساختمانی کریستالهای چند وجهی ویروسی، علاوه بر تغییرات در اندازه‌ها، با درگرگونی‌هایی در رنگ پذیری نیز همراه بود، به طوریکه با روش رنگ‌آمیزی یاد شده، پلی هدرهای کوچک و تازه تشکیل شده، رنگ بنفش و پلی هدرهای بزرگ و متکامل رنگ قرمز به خود گرفتند. افزایش غیر عادی حجم هسته‌ها، در آلودگی شدید ویروسی به حدی بود که تقریباً کل حجم سلول را به خود اختصاص داد و در نهایت پارگی جدار هسته و سلول اتفاق افتاد. در روزهای چهارم و پنجم با پیشرفت بیماری، آلودگی در تمامی سلول‌های بافت چربی و اپیدرم مشاهده شد

www.SID.ir

Archive of SID

(شکل‌های ۱ و ۲).

بافت‌های دیگری که علاوه بر بافت‌های فوق مورد حمله واقع شدند عبارت بودند از سلول‌های پوششی جدار تراشه (شکل ۳)، سلول‌های خونی، غلاف طناب عصبی (شکل ۴) و غده‌های تولید کنندهٔ ابریشم (شکل ۵). سلول‌های استوانه‌ای دستگاه گوارش، حالت عادی خود را تا لحظه‌های آخر بیماری حفظ کردند و داخل هستهٔ آنها اثری از کریستالهای ویروسی دیده نشد (شکل ۶). در مقاطع عرضی تهیه شده از لاروهای در حال مرگ، دستگاه گوارش جمع شده و نسبت به لاروهای شاهد سطح کمتری از مقطع عرضی بدن را اشغال کرد که این حالت به احتمال زیاد مربوط به فشار وارده از طرف همولنف و تحلیل رفتن سلول‌ها، در اثر عدم تغذیهٔ لاروهای بیمار بود.

ب- تاثیر دزهای مختلف MbNPV بر روی لاروهای سن دوم کارادرینا:

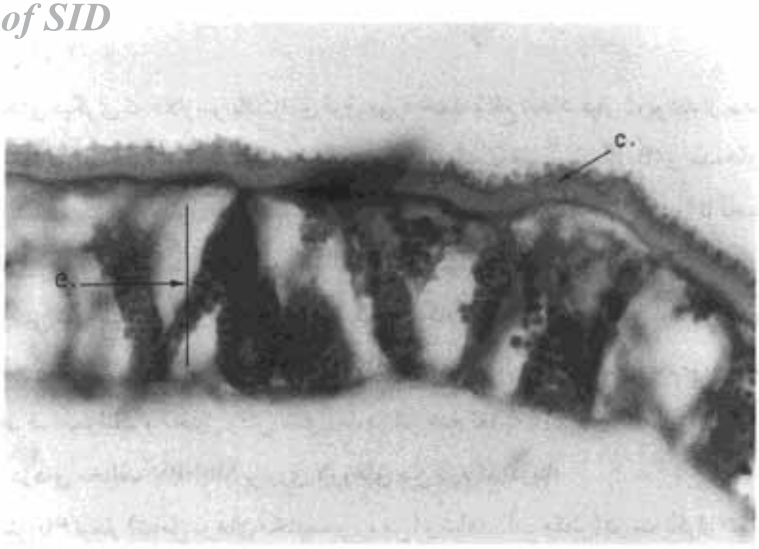
آزمایش با ۶ تیمار (شامل دزهای مختلف ویروس) و شاهد (آب مقطر) در سه تکرار انجام شد و هر تکرار شامل ۱۲ عدد لارو بود. آزمایش‌های مربوط به هر تکرار با فاصلهٔ زمانی یک ماه از هم انجام گردید. مرگ و میر ایجاد شده در لاورهای سن دوم در اثر تغذیه از غلظت‌های مختلف ویروس در جدول ۱ نشان داده شده است. اطلاعات حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که مرگ و میر لاروها نسبت به غلظت‌های لگاریتمی سوسپانسیون‌های ویروس بکار گرفته شده، روند یکنواختی داشته است. براساس روش Finney و دستور پروبیت (Probit)، فرمول خط رگرسیون، $Y=۳/۷۱۶۷۹ + ۱/۱۶۶۵۷ \times X$ و میزان LC_{50}، ۱۲/۵۸ پلی هدر / میلی متر مربع سطح مادهٔ غذائی، محاسبه گردید. در مورد دز ۶۳/۱۰ پلی هدر/میلی متر مربع سطح مادهٔ غدایی، که منجر به مرگ و میر لاروهای سن دوم به میزان ۷۶/۴۶ درصد گردید، مدت زمان لازم برای ایجاد ۵۰ درصد تلفات (LT_{50}) به روش قبلی محاسبه شد. فرمول خط رگرسیون، $Y=-۰/۴۵۱۰۳+۶/۹۲۵۶۰ \times X$ و میزان LT_{50}، ۶/۱۲ روز بدست آمد. مقادیر تلفات روزانه با دز اخیر در جدول ۲ نشان داده شده است.

ج - تعیین حساسیت سنین مختلف لاروی میزبان نسبت به MbNPV:

آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با تعداد نمونه‌های مساوی با ۳ تیمار (سنین لاروی ۱، ۳ و ۵) در ۶ تکرار و هر تکرار با ۶ لارو انجام شد. سطوح غذائی داخل قوطی‌ها با دز ۶۳/۱۰ پلی هدر/میلی متر مربع سطح مادهٔ غذائی، آلوده گردید. جدول ۳ میزان مرگ و میر سنین مختلف لاروی را نشان می‌دهد. نتیجهٔ حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که در هر دو سطح آماری ۵٪ و ۱٪ بین میانگین تلفات سنین مختلف لاروی اختلاف معنی داری وجود دارد. مقایسهٔ میانگین‌های تلفات با آزمون دانکن حاکی از آن بود که در سطح آماری ۵٪ بین میانگین مرگ و میر هر سه سن

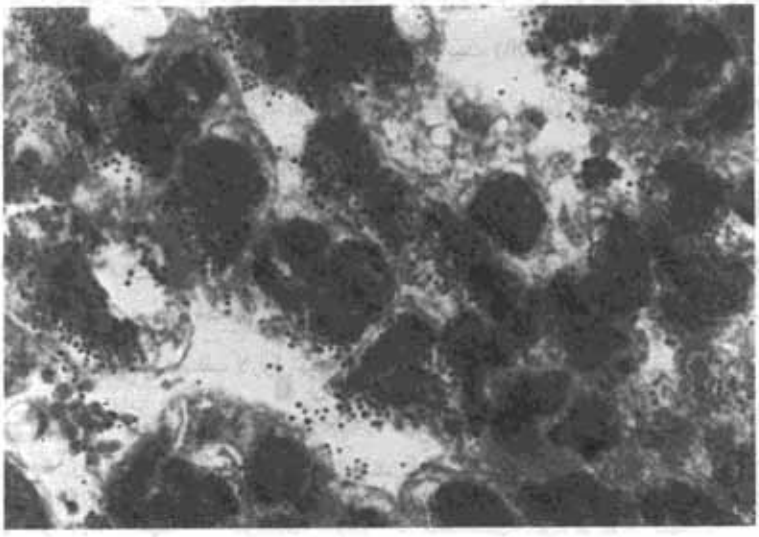
www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱- اشغال کامل هستهٔ سلول‌های اپیدرم لاروکارادرینا با ویروس MbNPV سه روز پس از آلودگی. درشت نمایی ۱۲۰۰ برابر.

Fig. 1. Complete nuclear occupation of epidermal cells of Caradrina larva by MbNPV, three days after infection. 1200x. "Orginal". c.= cuticle e.= epidermis

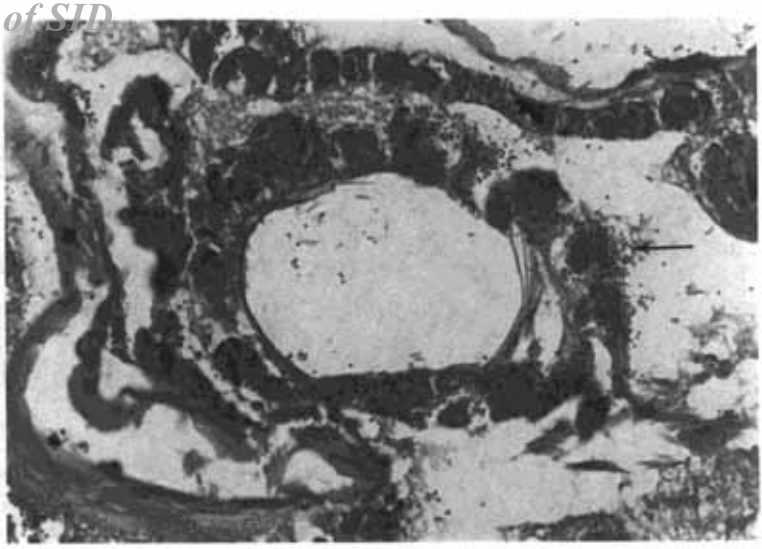


شکل ۲- ترکیدگی هسته و غشاء سلول‌های بافت چربی لاروکارادرینا، پنج روز پس از آلودگی با ویروس MbNPV و رها شدن پلی هدرها. درشت نمایی ۴۸۰ برابر

Fig. 2. Rupture of nucleus and cell membrane of adipose tissue and release of polyhedra, five days after infection by MbNPV. 480x. "Original".

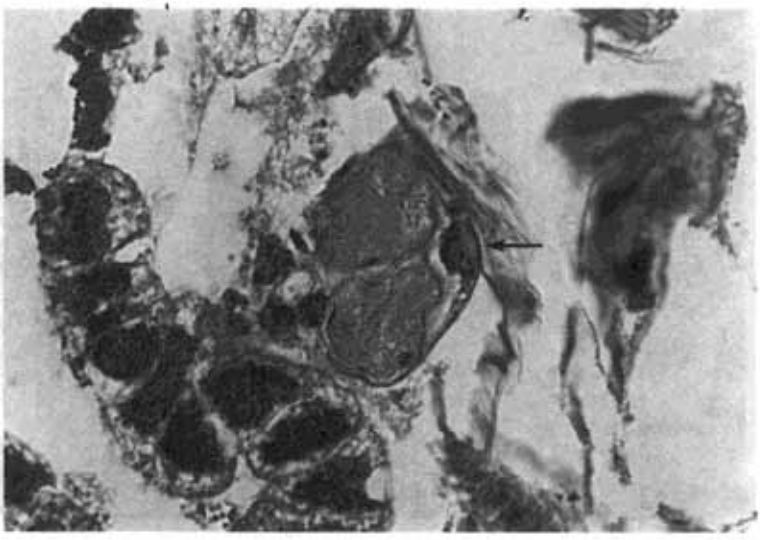
www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳- انهدام سلول‌های پوششی جدار تراشهٔ لارو کارادرینا، پنج روز پس از آلودگی با ویروس MbNPV. درشت نمایی ۳۶۰ برابر.

Fig. 3. Destruction of tracheal epidermal cells five days after infection by MbNPV. 360x. "Original".



شکل ۴- آلودگی غلاف طناب عصبی لارو کارادرینا با ویروس MbNPV، در وز پنجم. درشت نمایی ۲۴۰ برابر.

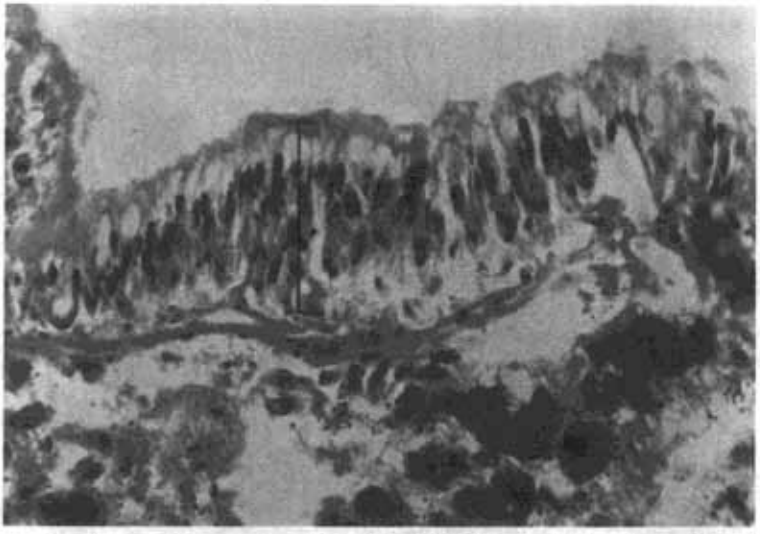
Fig. 4. Infection of nerve sheath of Caradrina larva by MbNPV, five days post inoculation 240x. "Original".

www.SID.ir

Archive of SID

شکل ۵- آلودگی غدهٔ تولید کنندهٔ ابریشم لارو کارادرینا با ویروس MbNPV، در روز سوم. درشت نمایی ۴۸۰ برابر.

Fig. 5. Infection of silk gland of Caradrina larva by MbNPV, three days post inoculation 480x."Original".



شکل ۶- سلول‌های استوانه‌ای دستگاه گوارش لارو کارادرینا، پنج روز پس از آلودگی با ویروس MbNPV. درشت نمایی ۳۶۰ برابر.

Fig. 6. Columnar cells of alimentary canal of Caradrina larva, five days after infection by MbNPV. 360x. "Original".

www.SID.ir

جدول ۱- مرگ و میر لاروهای سن دوم تغذیه کرده از غلظت‌های مختلف MbNPV

Table 1. Mortality of the second instar larvae fed on different doses of MbNPV

دز (پلی هدر/ میلی متر مربع) Dose ($PIB/_{mm2}$)	تعداد لارو No. of larvae		میزان مرگ و میر Mortality				درصد مرگ و میر Mortality (%)	درصد مرگ و میر اصلاح شده Corrected Mortality (%)
	تکرار Replication	کل Total	تکرار Replication			کل Total		
			1	2	3			
شاهد Control 0	12	36	0	1	1	2	5.55	0
1.58	12	36	2	3	2	17	19.44	14.71
3.98	12	36	6	3	4	13	36.11	32.36
10.00	12	36	6	4	7	17	47.22	44.12
25.12	12	36	7	9	6	22	61.11	58.82
63.10	12	36	8	11	9	28	77.77	76.46
158.49	12	36	11	12	11	34	94.44	94.11

Archive of SID
www.SID.ir

www.SID.ir

جدول ۲- مرگ و میر روزانهٔ لاروهای سن دوم تغذیه کرده از MbNPV با دز ۶۳/۱۰ پلی هدر/میلی متر مربع سطح مادهٔ غذائی

Table 2. Daily mortality of the second instar larvae fed on 63.10 $PIB/_{mm}2$

زمان (روز) Time (Day)	تعداد لارو No. of larvae		تعداد مرگ و میر Mortality		درصد مرگ و میر Mortality (%)	درصد مرگ و میر اصلاح شده Corrected Mortality (%)
	تکرار Replication	کل Total	تکرار Replication 1 2 3	کل Total		
3	12	36	0 0 0	0	0	0
4	12	36	2 1 2	5	13.88	8.82
5	12	36	4 4 5	13	36.11	32.36
6	12	36	7 6 7	20	55.55	52.94
7	12	36	7 8 8	23	63.88	61.75
8	12	36	8 11 9	28	77.77	76.44

Archive of SID

Archive of SID

لاروی مذکور اختلاف معنی داری وجود دارد و هر کدام از آنها در کلاس جداگانه‌ای قرار گرفت. در سطح آماری ۱٪، بین میانگین‌های مرگ و میر سنین لاروی ۱ و ۳ اختلاف معنی داری دیده نشد، میانگین تلفات هر یک از آنها با میانگین تلفات لارو سن ۵ دارای اختلاف معنی داری بود.

شفیره‌های بدست آمده از این آزمایش از نظر جنسیّت تفکیک و پس اندازه‌گیری وزن با شفیره‌های شاهد مقایسه شدند. بین میانگین‌های وزن شفیره‌های نر و مادهٔ آلوده و شفیره‌های نر و مادهٔ شاهد اختلاف معنی داری مشاهده نگردید (شکل ۷).

جدول ۳- مرگ و میر لاروهای سنین مختلف تغذیه کرده از MbNPV با دز ۶۳/۱۰ پلی هدر / میلی متر مربع سطح مادهٔ غذائی

Table 3. Mortality of different instar larvae fed on 63.10 PIB/$_{mm2}$

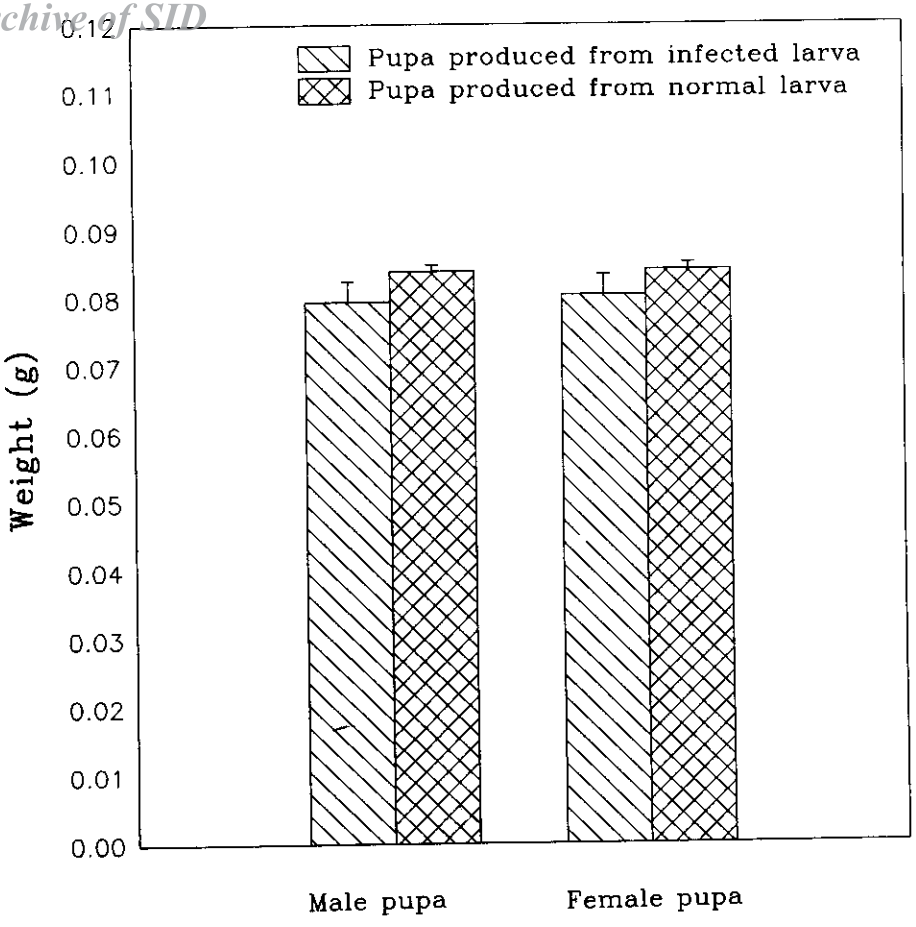
سن لاروی Instar	تعداد لاور No. of larvae		میزان مرگ و میر Mortality							میانگین درصد مرگ‌ومیر (اشتباه‌معیار ± میانگین) mean of mortality (%) (Mean ± SE)
	تکرار Replication	کل Total	تکرار Replication						کل Total	
			1	2	3	4	5	6		
1	6	36	6	6	6	6	6	6	36	100±0.00
3	6	36	4	5	5	3	5	3	25	69.44±6.69
5	6	36	2	1	0	0	1	0	4	11.11±5.56

د- اثر آلودگی سطحی دسته‌های تخم روی لاروها:

۱۴ دستهٔ تخم که هر یک محتوی ۱۵ عدد تخم بودند انتخاب و به دو گروه ۷ تائی تقسیم شدند. در مورد گروه اول که به عنوان شاهد در نظر گرفته شد، ۰/۱ سی سی آب مقطر و برای گروه دوم، ۰/۱ سی سی سوسپانسیون ویروسی به غلظت 10^5 × پلی هدر / سانتی متر مکعب، روی هر یک از دسته‌های تخم پاشیده شد. موارد عدم تفریخ تخم‌ها و تلفات روزانهٔ پس از تفریخ هر دو گروه یادداشت گردید. بین میانگین‌های درصد تخم‌های تفریخ نشده و همچنین میانگین‌های مربوط به درصدهای تلفات یک و دو روز پس از تفریخ گروه‌های تیمار و شاهد، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، در صورتیکه در مورد میانگین‌های درصد تلفات سومین روز پس از تفریخ، اختلاف معنی‌دار

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۷- میانگین وزن شفیرهٔ حاصل از لارو آلوده به ویروس MbNPV و لارو طبیعی.

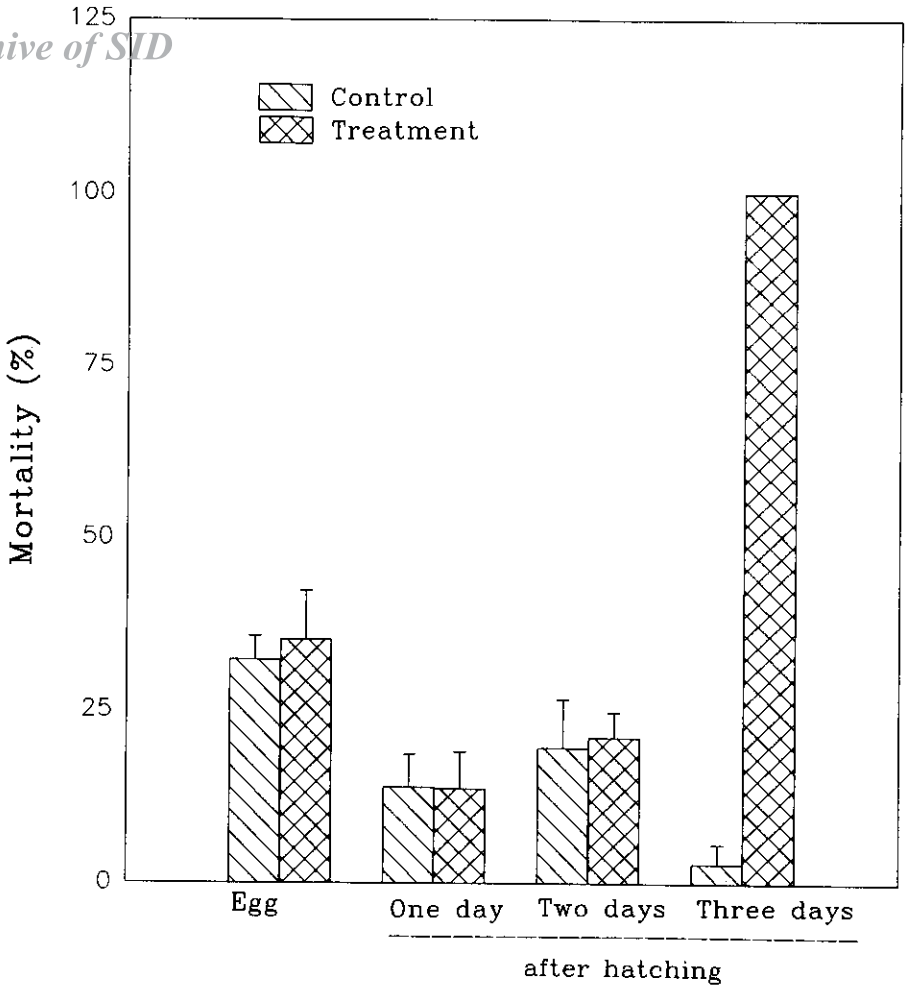
Fig. 7. Mean weigth of pupae issued from larvae infected by MbNPV and normal ones.

بود و گلیهٔ لاروهای گروه تیمار تلف شدند (شکل ۸).

نتایج بدست آمده حاکی از بالا بودن قدرت بیماریزائی ویروس MbNPV در لاروهای کارادرینا است. اطلاعات حاصل از آلودگی سطحی دسته‌های تخم و آزمایش‌های مربوط به سنین مختلف لاروی، بیانگر کاهش حساسیت با بالا رفتن سن لاروی است، بطوریکه میانگین درصد تلفات لارو سن اول حدود ۱۰ برابر لارو سن پنجم بود.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۸- میانگین درصد تلفات تخم‌های آلوده (تیمار) با ویروس MbNPV و غیر آلوده (شاهد و لاروهای حاصل آز آنها).

Fig. 8. Mean mortality percent of infected and non-infected (control) eggs and larvae issued from them.

نشانی نگارندگان: مهندس شهاب منظری، موسسه تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی، بخش تحقیقات رده بندی حشرات، صندوق پستی ۱۴۵۴ تهران ۱۹۳۹۵. دکتر محمد حسن صفر علیزاده، دانشگاه ارومیه، دانشکدهٔ کشاورزی، گروه گیاهپزشکی. دکتر خرازی پاکدل، دانشگاه تهران، دانشکدهٔ کشاورزی، گروه گیاهپزشکی، کرج. دکتر علی اصغر پور میرزا، دانشگاه ارومیه، دانشکدهٔ کشاورزی، گروه گیاهپزشکی.

www.SID.ir