

## پاسخ بویایی سن شکارگر *Macrolophus caliginosus* (Het.: Miridae) به رایحه‌ی گیاه لویاسبز سالم و آلوده به کنه‌ی تارتن دولکه‌ای، و شناسایی ترکیبات رایحه‌های آنها با تکنیک GC-MS

حمیدرضا صراف معیری<sup>۱\*</sup>، احمد عاشوری<sup>۱</sup>، سیدحسین گلدانساز<sup>۱</sup>، جعفر محقق نیشابوری<sup>۲</sup>، لایف پل<sup>۳</sup> و انی اینگگارد<sup>۴</sup>

۱- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ۲- موسسه‌ی تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، تهران، ۳- گروه صنایع غذایی، دانشگاه کی وی ال، دانمارک، ۴- گروه مدیریت تلفیقی آفات، مرکز تحقیقات فلکیه، موسسه‌ی تحقیقات علوم کشاورزی، دانمارک، ۵- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه زنجان.

\*مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: hamidsarrafm@yahoo.com

### Olfactory response of the predatory mirid bug, *Macrolophus caliginosus* (Het.: Miridae) to clean and infested green bean with two-spotted spider mite and identification of their volatile compounds by using GC-MS technique

H. R. S. Moayeri<sup>1,5,\*</sup>, A. Ashouri<sup>1</sup>, S. H. Goldansaz<sup>1</sup>, J. Mohaghegh<sup>2</sup>, L. Poll<sup>3</sup> and A. Enkegaard<sup>4</sup>

1. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran, 2. Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran, Iran, 3. Department of Dairy and Food Science, the Royal Veterinary and Agricultural University, Denmark, 4. Department of Integrated Pest Management, Research Centre Flakkebjerg, Danish Institute of Agricultural Sciences, Denmark, 5. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Iran.

\*Corresponding author, E-mail: hamidsarrafm@yahoo.com

#### چکیده

رایحه‌های القایی گیاهان می‌توانند بر اثر حمله‌ی گیاه‌خوار به گیاه تولید و بر اکولوژی و پاسخ‌های رفتاری دشمنان طبیعی مؤثر باشند. گیاه آسیب دیده به واسطه‌ی تغییر در ترکیبات تشکیل دهنده‌ی رایحه‌های خود با یک فرآیند بیوشیمیایی فعال می‌تواند دشمنان طبیعی را به خود جلب کند. در این پژوهش، قابلیت شناسایی و تشخیص رایحه‌های القایی گیاه لویاسبز سالم و آلوده به کنه‌ی تارتن دولکه‌ای، *Tetranychus urticae* Koch، توسط سن شکارگر *Macrolophus caliginosus* Wagner با استفاده از بویایی سنج Y شکل بررسی و ترکیبات تشکیل دهنده‌ی آن به کمک تکنیک گاز کروماتوگرافی-طیف‌سنج جرمی (GC-MS) شناسایی و با یکدیگر مقایسه گردید. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که سن‌های شکارگر به طور معنی‌داری به سمت گیاهان آلوده جلب می‌شوند، در حالی که رایحه‌ی کنه (شکار) به تنهایی برای شکارگر قابل تشخیص نیست. در مجموع، ۳۶ ترکیب از گیاه آلوده و ۲۹ ترکیب از گیاه سالم شناسایی شد که نشان می‌دهد گیاه صدمه‌دیده به واسطه‌ی گیاه‌خواری کنه‌ی تارتن، نسبت به گیاه سالم، رایحه‌های بیشتری تولید و متصاعد می‌کند. پاسخ تفاوت سن شکارگر *M. caliginosus* نسبت به گیاهان سالم و آلوده به کنه‌ی *T. urticae* می‌تواند نتیجه تفاوت در نوع و یا احتمالاً حجم این ترکیبات باشد که با القای کنه حاصل شده است.

واژگان کلیدی: پاسخ بویایی، کنه‌ی دولکه‌ای، *Macrolophus caliginosus* گاز کروماتوگرافی، رایحه‌ی گیاه، بویایی سنج Y شکل، لوبیاسبز

#### Abstract

Herbivore induced plant volatiles (HIPVs) can be produced by herbivores attack that affects on ecology and behavioural responses of natural enemies. Damaged plant attracts natural enemies due to change the volatile compounds constitute by an active biochemical processes. This study was conducted to test whether green bean HIPVs, as well as odours emitted directly from spider mites influenced the orientation behaviour of the predatory mirid bug, *Macrolophus caliginosus* Wagner. A Y-tube olfactometer was used to determine the attraction of the predator to herbivore induced volatiles from *Tetranychus urticae* Koch infested green bean plants over clean plants and to direct prey odours over clean air. The mirid bugs showed a stronger response to odours from infested plants than to those from clean plants. The mirids, however, did not seem to exploit odours emitted directly from the preys themselves. Compounds of infested and uninfested plant volatile blends were also determined by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Of a total of 36 infested green bean compounds, 29 compounds are emitted either by uninfested green bean. The results from GC-MS analysis confirm that volatile blends emanate from bean infested by spider mites is different to clean bean and the attractiveness of predatory mirid bugs to infested plant over clean bean is probably resulting in these differences.

**Key words:** olfactory response, two-spotted spider mite, *Macrolophus caliginosus*, gas chromatography, plant volatiles, Y-tube olfactometer, green bean

#### مقدمه

حشرات بر اساس اطلاعات دریافتی از محیط به جستجوی غذا، جفت و پناهگاه می‌پردازند (Elzinga, 1997). محرک‌های شیمیایی ایجاد شده بر اثر تغذیه‌ی گیاه‌خواران یکی از مهمترین منابع ردیابی شکار برای شکارگران می‌باشند. این مواد را رایحه‌های القایی گیاه یا HIPVs<sup>۱</sup> می‌نامند (Dicke & van Loon, 2000). این ترکیبات فرار می‌توانند به عنوان سینومون<sup>۲</sup> برای دشمنان طبیعی (شکارگر/انگل) عمل کنند (Dicke *et al.*, 1990; Dicke & van Loon, 2000). تولید HIPVs در حقیقت نوعی دفاع غیرمستقیم گیاه علیه گیاه‌خوار است که با جلب دشمن طبیعی به سمت گیاه‌خوار صورت می‌گیرد (Sabelis *et al.*, 1999). رایحه‌های گیاهی معمولاً به صورت دایم ولی به میزان کم از گیاه متصاعد می‌شوند و بر اثر تغذیه و القاء گیاه‌خواری، این مواد از لحاظ کمی و کیفی متفاوت می‌گردند (Paré & Tumlinson, 1999). پاسخ بویایی دشمنان طبیعی به رایحه‌های القایی می‌تواند به لحاظ میزان و نسبت مواد تشکیل دهنده‌ی آن و یا نوع و کیفیت مواد آن با یکدیگر متفاوت باشند (Paré & Tumlinson, 1999). تولید HIPVs طی یک فرایند فعال بین گیاه‌خوار و گیاه حاصل می‌شود، به طوری که حتی گیاهان آسیب‌دیده به

۱- Herbivore induced plant volatiles

۲- Synomone

صورت فیزیکی قابلیت تولید این مواد را نخواهند داشت (Turlings *et al.*, 1995; Dicke *et al.*, 1999; Yasuyuki *et al.*, 2004).

سن شکارگری چندخوار<sup>۱</sup> است که طی دو دهه‌ی گذشته به صورت تجاری و در سطحی وسیع به خصوص در گلخانه‌ها برای کنترل آفات<sup>۱</sup> چون سفیدبالک‌ها، شته‌ها، کنه‌ها و تریپس‌ها مورد استفاده قرار گرفته، ولی با این حال روابط موجود بین این شکارگر و گیاهان میزبان کمتر بررسی شده است (Fischer & Leger, 1996; Koskula *et al.*, 1999; Nedstam & Johansson-Kron, 1999; Arno *et al.*, 2003). مطالعه و شناخت برهمکنش‌های موجود بین شکارگر *M. caliginosus* و رایچه‌های القایی گیاهان میزبان به کمک آزمایش‌های رفتارشناسی و شیمی تجزیه می‌تواند ضمن روشن نمودن نحوه‌ی تعامل این دو، باعث کاربرد مؤثرتر این شکارگر در برنامه‌های کنترل تلفیقی آفات<sup>۲</sup> گردد.

هدف از این پژوهش، بررسی پاسخ بویایی سن شکارگر *M. caliginosus* به رایچه‌های القایی گیاه لویاسبز آلوده به کنه‌ی *Tetranychus urticae* Koch در برابر گیاه سالم و همچنین مطالعه‌ی پاسخ این شکارگر به رایچه‌ی کلنی کنه‌ی دولک‌های در مقایسه با هوای پاک می‌باشد. همچنین، تجزیه و شناسایی این رایچه‌ها با تکنیک گاز کروماتوگرافی- طیف سنج جرمی (GC-MS) و مقایسه‌ی ترکیبات مختلف تشکیل دهنده‌ی رایچه‌های ناشی از گیاه صدمه‌دیده و سالم با یکدیگر هدف دیگر این تحقیق می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

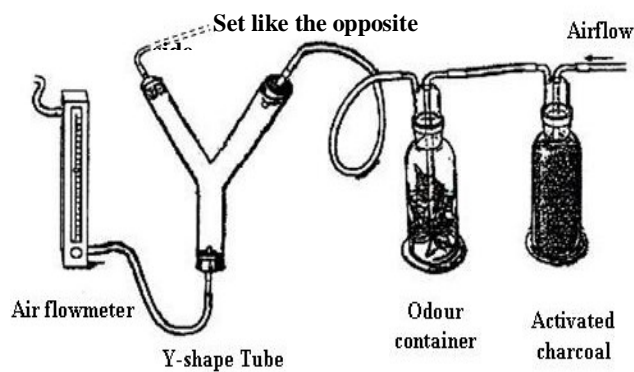
در تمام آزمایش‌ها از گیاهچه‌های دو برگی (۱۵ روزه) لویاسبز (*Phaseolus vulgaris* L.)، رقم Premil استفاده گردید. گیاهان در گلدان‌هایی به قطر ۱۰ و طول ۸ سانتی‌متر کاشته شدند. پرورش گیاهان در شرایط کنترل‌شده‌ی گلخانه با دمای  $25 \pm 1$  °C، رطوبت نسبی  $50 \pm 5\%$  و فتوپریود ۸ ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی انجام شد.

۱- Polyphage

۲- Integrated pests management (IPM)

حشرات کامل یک‌روزه‌ی سن شکارگر *M. caliginosus* از شرکت EWH, Bio Production (دانمارک) تهیه گردید. جهت سازگاری بیشتر با شرایط آزمایش، این سن‌ها به مدت دو روز روی گیاهان لوییای آلوده به کنه‌ی تارتن نگهداری شدند. کنه‌ی تارتن دولکه‌ای روی گیاهان لویاسبز رقم Premil در قفس‌هایی به ابعاد  $75 \times 66 \times 61$  سانتی‌متر که توسط شیشه و توری ارگانزا محصور شده بود، در گلخانه‌ای جدا از گیاهان سالم و در شرایط محیطی که در بالا ذکر گردید پرورش داده شد.

بویایی سنج Y شکل (Y-tube olfactometer) از یک لوله‌ی شیشه‌ای پیرکس به قطر  $2/5$  سانتی‌متر که بازوی اصلی آن  $15$  سانتی‌متر و بازوهای فرعی آن هرکدام  $20$  سانتی‌متر طول داشتند، ساخته شد. بازوهای فرعی به منبع رایحه متصل شدند و جریان هوای مداوم ایجادشده به وسیله‌ی پمپ هوا، توسط یک منبع از ذغال فعال‌شده، قبل از ورود به استوانه‌های منبع رایحه تصفیه گردید. میزان جریان هوا توسط یک دبی‌سنج هوا که در بازوی اصلی قرار داده شده بود، به میزان  $1/5$  لیتر در دقیقه تنظیم شد (شکل ۱). این بویایی سنج، با تغییرات اندک براساس مدل Takabayashi & Dicke (1992) طراحی و ساخته شد.



شکل ۱. نمایش شماتیک بویایی سنج Y شکل.

Fig. 1. Schematic representation of Y-tube olfactometer.

برای آماده‌سازی تیمار گیاهان آلوده، سه روز قبل از انجام آزمایش مربوطه، دو گیاهچه‌ی ۱۵ روزه‌ی لوبیاسبز هر کدام با ۱۵۰ کنه‌ی بالغ آلوده‌سازی شد. گیاهچه‌های سالم نیز به همین تعداد که در گلخانه‌ای مجزا و دور از گیاهان آلوده پرورش داده شده بودند در آزمایش‌های بویایی‌سنجی مورد استفاده قرار گرفتند. برای بررسی اثر مستقیم رایحه‌ی کنه‌ی تارتن روی پاسخ شکارگر، ۲ ساعت قبل از انجام آزمایش، تعداد ۳۰۰ کنه‌ی بالغ داخل سیلندرهای منبع رایحه قرار گرفتند (در این مدت، کنه‌ها داخل سیلندرها مبادرت به تولید تار نیز کردند). قبل از انجام آزمایشات بویایی‌سنجی، حشرات مورد مطالعه ۲۴ ساعت در ظرف‌های کوچک پلاستیکی ۲۵ میلی‌لیتری گرسنگی داده شدند. آزمایش بویایی‌سنجی با رهاسازی یک سن شکارگر ماده‌ی چهار روزه در بازوی اصلی شروع می‌شد. پس از رهاسازی، حشره‌ی مورد نظر ردیابی می‌شد تا در نهایت یکی از بازوهای بویایی‌سنج را انتخاب نماید. پاسخ بویایی حشرات تنها در صورتی که در مدت زمان کمتر از ۵ دقیقه، حداقل ۷ سانتی‌متر از یکی از بازوهای فرعی را می‌پیموند، مورد قبول قرار می‌گرفت. ماده‌هایی که در این مدت هیچکدام از بازوها (تیمارهای رایحه) را انتخاب نمی‌کردند، به عنوان بی‌پاسخ (no choice) ثبت می‌گردیدند. پس از ارزیابی پاسخ بویایی هر ۱۰ حشره، لوله‌ی Y شکل بویایی‌سنج با الکل ۷۰٪ شسته می‌شد و محفظه‌های نگهداری رایحه‌ها بین بازوهای چپ و راست تعویض می‌شدند تا احتمال هر گونه خطای ناشی از عدم تقارن احتمالی به حداقل برسد. هر آزمایش در ۴ روز و در هر روز با ۳۰ شکارگر و منابع جدید از رایحه و حشرات تکرار شد (در مجموع ۱۲۰ شکارگر برای هر آزمایش). دو آزمایش بویایی‌سنجی به شرح زیر انجام گرفت: (۱) پاسخ بویایی ماده‌های بالغ سن شکارگر *M. caliginosus* به رایحه‌ی گیاه لوبیاسبز آلوده به کنه‌ی تارتن در مقابل رایحه‌ی گیاه سالم و (۲) پاسخ بویایی ماده‌های بالغ سن شکارگر *M. caliginosus* به رایحه‌ی کنه‌ی تارتن (بدون حضور گیاه) در مقایسه با هوای پاک.

برای تجزیه و شناسایی رایحه‌های گیاهی با استفاده از تکنیک گاز کروماتوگرافی-طیف‌سنج جرمی، گیاهان سالم و آلوده به طور مجزا، هر کدام به تعداد ۴ گیاهچه‌ی دو برگی داخل ظرف‌های گازشویی یک لیتری قرار داده شدند. ورودی این ظرف‌ها به جریان هوای فیلترشده توسط زغال فعال و خروجی آنها نیز به یک تله‌ی رایحه که شامل میله‌ای استوانه‌ای

حاوی ۲۵۰ میلی گرم Tenax-TA (Buchem bv, Apeldoorn, the Netherlands) با توری ۶۰/۸۰ مش بود، متصل گردید. جمع‌آوری رایحه‌ها برای گیاه سالم و آلوده، هر کدام در سه تکرار به مدت ۹۰ دقیقه با جریان هوایی با شدت ۱۰۰ میلی‌لیتر در دقیقه انجام شد.

ترکیبات فرار جمع‌آوری شده با کمک دستگاه Automated thermal desorber (ATD 400, Perkin-Elmer) از تله‌ها جدا و متعاقباً برای تجزیه و شناسایی به دستگاه گاز کروماتوگرافی (HP G 1800 A GCD system) با مشخصات زیر منتقل شدند: ستون DB-Wax (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm)، گاز حامل هلیوم؛ فشار ستون ۴۸ KPa؛ برنامه‌ی دمایی ۴۵ °C به مدت ۱۰ دقیقه که تا ۲۴۰ °C با نرخ ۶ °C/min افزایش یافته و به مدت ۳۰ دقیقه ثابت می‌ماند. تفکیک با انرژی یونیزاسیون ۷۰ eV انجام می‌شد. شناسایی ترکیبات از طریق مقایسه‌ی داده‌های به دست آمده با ترکیبات مرجع (G1035A-WileyLibrary (Hewlett-Packard) انجام گردید.

داده‌های حاصل از آزمایش‌های بویایی سنجی به کمک آزمون مربع کای (chi-square) مقایسه گردید. ماده‌های *M. caliginosus* که به عنوان افراد بی‌پاسخ ثبت شده بودند، در آزمون لحاظ نگردیدند (Moayeri et al., 2006a, b).

## نتایج و بحث

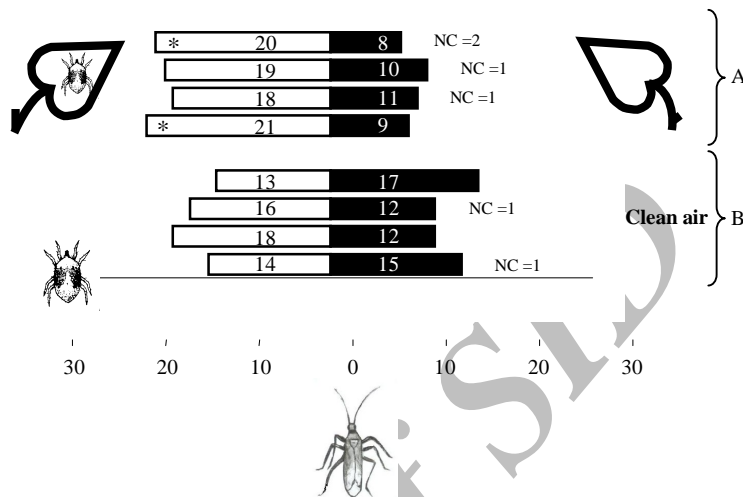
در آزمایش اول بویایی سنجی ماده‌های سن شکارگر *M. caliginosus* به طور معنی‌داری گیاهان آلوده به کنه‌ی تارتین دولکه‌ای، *T. urticae*، را نسبت به گیاهان سالم ترجیح داده و به سمت آن جلب شدند ( $P < 0.001$ ،  $df: 1$ ،  $\chi^2: 13/79$ ). در این آزمایش از مجموع ۱۲۰ سن شکارگر مورد مطالعه، تعداد ۷۸ فرد به سمت گیاهان آلوده به کنه و ۳۸ شکارگر دیگر به سمت گیاهان سالم جلب شدند (شکل ۲A).

نتایج به دست آمده در این آزمایش نشان‌دهنده‌ی توانایی سن شکارگر *M. caliginosus* در شناسایی رایحه‌های القایی گیاه لویاسبز آلوده به کنه‌ی تارتین و استفاده از آن برای جستجوی شکار خود می‌باشد. بنا به گزارش Venzon et al., (1999)، سن شکارگر *Orius laevigatus* (Fieber) (Het.: Anthocoridae) بوته‌های خیار آلوده به کنه‌ی تارتین دو لکه‌ای را به بوته‌های

سالم ترجیح می‌دهد. همچنین نتایج مشابهی برای سن شکارگر (*Anthocoris nemorum* (L.)) (Het.: Anthocoridae) بر خلاف نتایج فوق، سن شکارگر (*Dicyphus hesperus* Knight (Het.: Miridae)) هیچگونه ترجیحی به رایحه‌ی گیاهان گوجه‌فرنگی آلوده به این کنه در مقایسه با گیاهان سالم گوجه‌فرنگی از خود نشان نداد (McGregor & Gillispie, 2004). عدم ترجیح سن *D. hesperus* به رایحه‌ی گیاه آلوده ممکن است ناشی از عدم تشخیص شکارگر، عدم توان تولید رایحه از طرف گیاه و یا همچنین از برهمکنش بین این دو باشد، که برای اطلاعات بیشتر بایستی آزمایشات تکمیلی به ویژه بررسی‌های مولکولی صورت گیرد.

آزمایش دوم بویایی سنجی نشان می‌دهد که رایحه‌ی گیاه‌خوار (شکار) به تنهایی و به طور مستقیم (بدون حضور گیاه) برای سن‌های شکارگر قابل شناسایی و ردیابی نیست. تجزیه‌ی آماری، تفاوت معنی‌داری در جهت‌گیری حشرات مورد آزمایش به سمت بوی شکار یا هوای پاک نشان نمی‌دهد ( $P = 0/65$ ,  $df: 1$ ,  $\chi^2: 0/21$ ). از مجموع ۱۲۰ سن شکارگر مورد مطالعه در این آزمایش، تعداد ۵۶ فرد به سمت بوی شکار و ۶۱ شکارگر به سمت هوای پاک جلب شدند (شکل ۲B). نتایج به دست آمده‌ی فوق مشابه مطالعات (Sabelis et al., 1984) و (Gnanvossou et al., 2001) است که به ترتیب نشان دادند رایحه‌ی کنه‌ی دولکه‌ای برای کنه‌ی شکارگر *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot و رایحه‌ی کنه‌ی سبز کاساوا، *Mononychellus tanajoa* (Bordar) برای کنه‌های شکارگر *Typhlodromalus manihoti* Moraes و *T. aripo* DeLeon جلب‌کننده نیستند. با این وجود، مطالعات (Dong & Chant, 1986) بر خلاف نتایج فوق و این پژوهش می‌باشد که نشان می‌دهد جانوران کامل و پروتومف کنه‌ی شکارگر *P. persimilis* به سمت رایحه‌ی کنه‌ی میزبان *Tetranychus pacificus* McGregor جلب می‌شوند. نتایج آزمایش حاضر (شکل ۲B) تأیید می‌کند که در آزمایش قبل (شکل ۲A) جاذب‌های بویایی ناشی از گیاه آلوده بوده است که سبب جلب سن شکارگر *M. caliginosus* گردیده و رایحه‌های کنه به خودی خود تأثیری در رفتار جستجوگری شکارگر نداشته است.

بررسی مقایسه‌ای بین نتایج حاصل از تجزیه و شناسایی مولکولی ترکیبات فرار از گیاه لوبیاسبز آلوده به کنه‌ی دولکه‌ای در مقایسه با گیاه سالم نشان داد که تعداد ترکیبات فرار



شکل ۲. پاسخ بویایی سن شکارگر *M. caliginosus* به (A) لوبیاسبز آلوده به کنه‌ی تارتن در برابر گیاه سالم و (B) رایحه‌ی کنه در برابر هوای پاک. اعداد داخل هر مستطیل نشان دهنده‌ی تعداد افراد پاسخ داده به منابع رایحه است. NC نشان‌دهنده‌ی تعداد افراد بی‌پاسخ می‌باشد. برای توضیحات بیشتر به متن مراجعه کنید.  $P < 0.05$  \* (آزمون مربع کای).

**Fig. 2.** Olfactory response of *M. caliginosus* to (A) green bean infested with *T. urticae* versus clean green bean and (B) odour from adults *T. urticae* versus clean air. Numbers in bars represent individual predators that moved towards the volatiles. NC indicates the number of tested individuals that did not respond. See text for more explanation. \*  $P < 0.05$  (chi-square test).

متصاعد شده از گیاهان آلوده به کنه بیشتر از گیاهان سالم می‌باشد. به کمک دستگاه GC-MS مجموعاً ۲۹ ترکیب از گیاهان سالم و ۳۶ ترکیب از گیاهان آلوده تفکیک و شناسایی شد (جدول ۱). توانایی تولید رایحه‌های القایی در بیش از ۲۳ گونه گیاه متعلق به ۱۳ خانواده تاکنون به ثبت رسیده است (Dicke & Vet, 1999). در تحقیق حاضر، ۲۹ ترکیب شناسایی شده از گیاهان سالم در ترکیبات رایحه‌ی گیاهان آلوده نیز وجود دارند که اصطلاحاً به آنها رایحه‌های



سبز یا GLV<sup>۱</sup> گفته می‌شود. این ترکیبات عموماً از گروه آلدئیدها، کتون‌ها، الکل‌ها، استرها و ترپن‌ها می‌باشند که تقریباً در اکثر گیاهان سبز وجود دارند (Hansson *et al.*, 1999). اما آنچه بیشتر در این پژوهش مورد توجه قرار می‌گیرد، ترکیبات متفاوت رایحه‌ی گیاه آلوده نسبت به گیاه سالم است که در اثر القاء گیاه‌خوار طی یک فرآیند فعال از گیاه صدمه‌دیده متصاعد می‌شوند (Dicke *et al.*, 2003).

هفت ترکیب متفاوت به دست آمده در این بررسی شامل Isopentylacetate؛ 3-Pentanone؛ Methyl salicylate؛ (E,E)- $\alpha$ -farnesene؛ 3-Hexen-1-ol، propanoate؛ 1-Butanol، 3-methyl acetate و 2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene می‌باشد (جدول ۱). در بین ترکیبات فوق، متیل سالیسیلات، ترکیبی است که خاصیت جلب‌کنندگی آن برای کنه‌ی شکارگر *P. persimilis* توسط Dicke *et al.* (1999) نشان داده شده است. همچنین اثر جلب‌کنندگی ترکیبات (E,E)- $\alpha$ -farnesene و متیل سالیسیلات متصاعدشده از گیاهان آلوده به پسیل برای سن‌های شکارگر *Anthocoris nemoralis* (Fabricius) نیز گزارش شده است (Drukker *et al.*, 2000). در این بین نکته‌ی قابل توجه در خصوص ترکیب (E,E)- $\alpha$ -farnesene، شناسایی و معرفی ایزومر  $\beta$  این ترکیب به عنوان فرمون هشداردهنده برای گیاه‌خوارانی مانند شته‌ها می‌باشد (Francis *et al.*, 2004). تشریح این مواد توسط گیاه‌خوار، در صورت خطر ناشی از وجود دشمن طبیعی یا کمبود منابع غذایی می‌باشد که سبب دفع هم‌گونه‌ها می‌گردد. در یک بحث تکاملی و با توجه به شبیه‌سازی این ترکیب توسط گیاه، به نظر می‌رسد که گیاه از این فرآیند به عنوان یک مکانیسم دفاعی برای دفع گیاه‌خواران پس از صدمه استفاده می‌کند. همچنین خاصیت دفع‌کنندگی رایحه‌های فرار القایی برای گیاه‌خواران هم‌گونه و غیر هم‌گونه‌ی حشره‌ی عامل خسارت به کرات گزارش شده است (Dicke & van Loon, 2000). تولید ترکیبی شبیه فرمون هشداردهنده‌ی حشرات توسط منابع گیاهی برای اولین بار توسط Gibson & Pickett (1983) از گیاه سیب‌زمینی وحشی (*Solanum berthaultii* Hawkes) توسط القای شته‌ی سبز هلو گزارش شده است. در تحقیق حاضر این فرآیند برای اولین بار از روی گیاه لوبیاسبز و همچنین در اثر القای کنه‌ی تارتن دولکه‌ای معرفی می‌شود.

1- Green leaf volatiles

جدول ۱. ترکیبات شناسایی شده از رایحه‌ی گیاهان لوبیاسبز آلوده به کنه‌ی تارتن و گیاهان سالم با تکنیک GC-MS. اعدادی که زیر آنها خط کشیده شده، نشان‌دهنده‌ی ترکیباتی است که با گیاه‌خواری کنه‌ی تارتن القا شده است. مقادیر، نشان‌دهنده‌ی درصد سطح زیر نمودار از کل می‌باشد.

**Table 1.** Detected compounds from infested green bean with spider mites and from clean green bean by GC-MS technique. Underlined figures indicate the compounds induced by feeding of spider mite. The amounts indicate % peak area of total.

Compound	Retention time	Infested green bean	Clean green bean
Hexan	1.97	0.34	1.06
Isobutyl isopentanoic acid ester	2.23	0.31	1.09
Cyclotrisiloxane hexamethyl	2.60	0.67	0.44
Acetic acid, ethyl ester	2.79	0.27	3.38
3-Pentanone	3.79	<u>1.49</u>	-
Hexanal	6.14	0.24	0.56
Isopentylacetate	7.83	<u>0.20</u>	-
1-Butanol, 3-methyl acetate	7.86	<u>0.11</u>	-
1-Penten-3-ol	10.00	2.80	1.99
N-Heptanal	11.06	0.21	1.78
Limonene	11.61	0.08	5.57
Trans-2-hexanal	12.49	0.14	0.48
Dodecane	12.72	0.28	0.57
Trans-beta-ocimene	14.27	3.41	0.20
3-Octanone	14.37	0.16	0.40
N-hexyl acetate	15.21	0.33	0.09
Octanal	15.64	0.03	0.39
(E)-4, 8-Dimethyl-1,3,7-nonatriene	16.42	62.32	52.52
3-Hexen-1-ol, acetate	17.09	0.17	0.07
6-Methyl-5-hepten-2-one	17.26	0.07	0.17
1-Hexanol	18.11	0.07	0.29
3-Hexen-1-ol, propanoate	18.80	<u>0.31</u>	-
Cis-3-hexen-1-ol	18.95	4.97	10.35
3-Octanol	19.36	2.79	0.63
Acetic acid	20.44	0.32	1.04
1-Octen-3-ol	20.75	2.87	1.32
Butanoic acid, 3-hexenyl ester	20.92	1.43	0.65
Cis-3-hexenyl 2-methyl butanoate	21.25	0.51	0.24
N-decyl aldehyde	21.85	0.40	1.12
Linalool	23.09	1.07	0.45
Butanoic acid	24.67	0.10	0.06
(E,E)- $\alpha$ -farnesene	27.34	<u>0.09</u>	-
Methyl salicylate	27.68	<u>0.10</u>	-
Butyl butyrate	29.66	0.77	1.18
Hexadecanoic acid	45.93	0.16	0.12
2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene	49.78	<u>0.12</u>	-

در پژوهش حاضر، ترکیب 4,8,12-Trimethyl-1,3(E),7(E),11-Tridecatetraene که از گیاهان لوبیای لیمای آلوده به کنه‌ی تارتن شناسایی شده و به عنوان جلب‌کننده برای شکارگران معرفی شده است (Dicke *et al.*, 1999; Sabelis *et al.*, 1999)، از رایحه‌های القایی گیاه لوبیاسبز شناسایی نشد.

بررسی‌های تکمیلی اثرات ترکیبات به دست آمده در این پژوهش به تفکیک و نیز بررسی کمی این ترکیبات روی پاسخ بویایی سن شکارگر *M. caliginosus* می‌تواند موضوع مطالعات آتی باشد. اطلاعات تکمیلی در این زمینه، علاوه بر کمک به درک هر چه بیشتر روابط اکولوژیکی در یک برهمکنش سه سطحی بین گیاه-گیاه‌خوار-دشمن طبیعی، افزایش کارایی دشمنان طبیعی در برنامه‌های کنترل بیولوژیک آفات را نیز به همراه خواهد داشت.

#### منابع

- Arno, J., Alonso, E. & Gabarra, R. (2003) Role of the parasitoid *Diglyphus isaea* (Walker) and the predator *Macrolophus caliginosus* Wagner in the control of leafminers. *IOBC/wprs Bulletin* 26(10), 79-84.
- Dicke, M., Gols, R., Ludeking, D. & Posthumus, M. A. (1999) Jasmonic acid and herbivory differentially induce carnivore-attracting plant volatiles in lima bean plants. *Journal of Chemical Ecology* 25, 1907-1922.
- Dicke, M., Sabelis, M. W., Takabayashi, J., Bruin, J. & Posthumus, M. A. (1990) Plant strategies of manipulating predator-prey interactions through allelochemicals: prospects for application in pest control. *Journal of Chemical Ecology* 16, 3091-3118.
- Dicke, M. & van Loon, J. J. A. (2000) Multitrophic effects of herbivore-induced plant volatiles in an evolutionary context. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 97, 237-249.
- Dicke, M., van Poecke, R. M. P. & de Boer, J. G. (2003) Inducible indirect defence of plants: from mechanisms to ecological functions. *Basic and Applied Ecology* 4, 27-42.
- Dicke, M. & Vet, L. E. M. (1999) Plant-carnivore interactions: evolutionary and ecological consequences for plant, herbivore and carnivore. pp. 483-520 in Olf, H., Brown, V. K. & Drent, R. H. (Eds) *Herbivores: between plants and predators*. 639 pp. Blackwell Science, Oxford, UK.

- Dong, H. Q. & Chant, D. A.** (1986) The olfactory response of three species of predacious phytoseiid mites (Acarina: Gamasina) to a prey tetranychid species. *International Journal of Acarology* 12(1), 51-55.
- Drukker, B., Bruin, J. & Sabelis, M. W.** (2000) Anthocorid predators learn to associate herbivore-induced volatiles with presence or absence of prey. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 25, 260-265.
- Dwumfour, E. F.** (1992). Volatile substances evoking orientation in the predatory flowerbug *Anthocoris nemorum* (Heteroptera: Anthocoridae). *Bulletin of Entomological Research* 82, 465-469.
- Elzinga, R. J.** (1997). *Fundamentals of entomology*. 4<sup>th</sup> ed. 475 pp. Prentice-Hall, Incorporation, New Jersey.
- Fischer, S. & Leger, A.** (1996) *Macrolophus caliginosus* W. (Heteroptera: Miridae), a beneficial to be exploited under glass. *Revue Suisse de Viticulture, d'Arboriculture et d'Horticulture* 28, 111-112.
- Francis, R., Lognay, G. & Haubruge, E.** (2004) Olfactory responses to aphid and host plant volatiles releases: (*E*)- $\beta$ -farnesene and effective kairomone for the predator *Adalia bipunctata*. *Journal of Chemical Ecology* 30(4), 741-755.
- Gibson, R. W. & Pickett, J. A.** (1983) Wild potato repels aphids by release of aphid alarm pheromone. *Nature* 302, 608-609.
- Gnanvossou, D., Hanna, R., Dicke, M. & Yaninek, J. S.** (2001) Attraction of the predatory mites *Typhlodromalus manihoti* and *Typhlodromalus aripo* to cassava plants infested by cassava green mite. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 101, 291-298.
- Hansson, B. S., Larsson, M. C. & Leal, W. S.** (1999) Green leaf volatile detecting olfactory receptor neurons display very high sensitivity and specificity in a scarab beetle. *Physiological Entomology* 24, 121-126.
- Koskula, H., Vanninen, I. & Lindqvist, I.** (1999) The role of *Macrolophus caliginosus* (Het.: Miridae) in controlling the two-spotted spider mite in greenhouse tomato under North-European conditions. *IOBC/wprs Bulletin* 22(1), 129-132.
- McGregor, R. R. & Gillespie, D. R.** (2004) Olfactory responses of the omnivorous generalist predator *Dicyphus hesperus* to plant and prey odours. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 112(3), 201-205.

- Moayeri, H. R. S., Ashouri A., Brødsgaard, H. F. & Enkegaard A.** (2006a) Odour-mediated preference and prey preference of *Macrolophus caliginosus* between spider mites and green peach aphids. *Journal of Applied Entomology* 130, 504-508.
- Moayeri, H. R. S., Ashouri A., Brødsgaard, H. F. & Enkegaard A.** (2006b) Odour-mediated responses of the predatory mirid bug, *Macrolophus caliginosus* Wagner (Heteroptera: Miridae) and its prey, the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Experimental and Applied Acarology* 40, 27-36.
- Nedstam, B. & Johansson-Kron, M.** (1999) *Diglyphus isaea* (Walker) and *Macrolophus caliginosus* Wagner for biological control of *Liriomyza bryoniae* (Kaltenbach) in tomato. *IOBC/wprs Bulletin* 22(1), 185-187.
- Paré, P. W. & Tumlinson, J. H.** (1999) Plant volatiles as a defense against insect herbivores. *Plant Physiology* 121, 325-331.
- Sabelis, M. W., Afman, B. P. & Slim, P. J.** (1984) Location of distant spider mite colonies by *Phytoseiulus persimilis*: localization and extraction of a kairomone. *Acarology* 1, 431-440.
- Sabelis, M. W., Janssen, A., Pallini, A., Venzon, M., Bruin, J., Drukker, B. & Scutareanu, P.** (1999) Behavioural responses of predatory and herbivorous arthropods to induced plant volatiles: from evolutionary ecology to agricultural applications. pp. 269-296 in Agrawal, A., Tuzun, S. & Bent, E. (Eds) *Induced plant defenses against pathogens and herbivores*. 390 pp. American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA.
- Takabayashi, J. & Dicke, M.** (1992) Response of predatory mites with different rearing histories to volatiles of uninfested plants. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 64, 187-193.
- Turlings, T. C. J., Loughrin, J. H., McCall, P. J., Röse, U. S. R., Lewis, W. J. & Tumlinson, J. H.** (1995) How caterpillar-damaged plants protect themselves by attracting parasitic wasps. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 92, 4169-4174.
- Venzon, M., Janssen, A. & Sabelis, M. W.** (1999) Attraction of a generalist predator towards herbivore-infested plants. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 93, 305-314.
- Yasuyuki, C., Shimoda, T., Ozawa, R., Dicke, M. & Takabayashi, J.** (2004) Exposure of lima bean leaves to volatiles from herbivore-induced conspecific plants results in

emission of carnivore attractants: active or passive process? *Journal of Chemical Ecology* 30(7), 1305-1317.

Archive of SID