

آفات و بیماری‌های گیاهی

جلد ۸۴، شماره ۱، شهریور ۱۳۹۵

القاء مقاومت به شته سبز هلو (*Myzus persicae*) در باقلا توسط تیمارهای سالیسیلیک اسید و بتاآمینوبوتیریک اسیدعاطفه نایب‌زاده<sup>۱</sup>، غلام‌رضا شریفی سیرچی<sup>۲</sup> ✉ و کمال احمدی<sup>۳</sup>

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران؛ ۲- گروه مهندسی کشاورزی،

دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، ایران؛ ۳- گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران

(تاریخ دریافت: مرداد ۱۳۹۳؛ تاریخ پذیرش: آبان ۱۳۹۴)

## چکیده

شته سبز هلو (*Myzus persicae*) یکی از آفات مهم درختان میوه هسته‌دار مانند هلو و گوجه است. علاوه بر این از گیاهان زراعی یک‌ساله مانند باقلا، گوجه‌فرنگی، سیب‌زمینی، چغندر قند و علف‌های هرز نیز تغذیه می‌نماید. این شته با استفاده از خرطوم باریک خود به بافت بین سلولی گیاه نفوذ کرده و مقدار زیادی از شیره آوند آبکش را مصرف می‌کند، که این امر باعث ایجاد خسارات زیادی برای گیاهان میزبان می‌شود. در این تحقیق توانایی بتاآمینوبوتیریک اسید و سالیسیلیک اسید به منظور ایجاد مقاومت بر علیه شته سبز هلو روی گیاه باقلا (*Vicia faba*) بررسی شده است. بدین منظور یک آزمایش فنوتیپی و یک آزمایش مولکولی انجام شد. نتیجه آزمایش فنوتیپی نشان داد که بتاآمینوبوتیریک اسید و سالیسیلیک اسید اثرات ممانعت‌کنندگی روی رشد و تکثیر شته سبز هلو داشته‌اند. این تیمارها با افزایش طول سیکل زندگی شته‌ها باعث کم شدن جمعیت شته شدند. نتیجه آزمایش مولکولی نشان داد که تیمارهای مذکور با افزایش بیان ژن کیتیناز گیاه باقلا توانستند در این گیاه مقاومت القاء کنند.

واژه‌های کلیدی: باقلا، بیان ژن، ژن کیتیناز، سیستم SAR، شته سبز هلو، مقاومت.

### Resistance induction to green peach aphid (*Myzus persicae*) in broad bean by salicylic acid and $\beta$ -aminobutyric acid

A. NAYEBZADEH<sup>1</sup>, G. R. SHARIFI-SIRCHI<sup>2</sup> ✉ and K. AHMADI<sup>3</sup>

1- Graduated Msc student of Agricultural Biotechnology Department, Agriculture College, Shahid Bahonar University of Kerman,

Iran; 2- Agricultural Engineering Department, College of Agriculture and Natural Resource, Hormozgan University, Iran;

3- Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran

## Abstract

Green peach aphid (*Myzus persicae*) is the most important pest of stone fruit trees such as peach and plum. It damages annual crops as common bean, tomato, potato, cabbage and herbs. The aphid uses its slender stylet to penetrate the plant tissues intracellularly and consume considerable amount of phloem sap, causing extensive damage to host plants. In this study, ability of  $\beta$ -aminobutyric (BABA) and salicylic acid (SA) to induce resistance against *Myzus Persicae* on broad bean (*Vicia faba*) were investigated. For this purpose, one phenotype experiment and one molecular experiment were performed. Greenhouse experiments showed that BABA and SA treatments had inhibitory effects on aphid's growth and development by increasing life cycle length and decreasing of reproduction. Results of molecular experiment showed increasing mRNA levels of chitinase, after application of BABA and SA.

**Key words:** Chitinase gene, Faba bean, Gene expression, Green peach aphid, Systemic Acquired Resistance.

## مقدمه

شته سبز هلو به رنگ سبز زیتونی با انتهای پنجه و نوک کورنیکول تیره است (Moran and Thompson, 2001). شته‌ها با فرو بردن خرطوم خود به داخل برگ‌ها، از شیره گیاه تغذیه کرده و موجب زرد شدن و پژمردگی برگ‌ها می‌شوند. شته‌ها ناقل بیماری‌های ویروسی نیز می‌باشند (Clements *et al.*, 2000) که ضرر و زیان این مسئله از خسارت مستقیم شته بیشتر است (Klingler *et al.*, 2005). این شته دامنه میزبانی وسیعی (بیش از ۵۰ خانواده) دارد و از اواسط بهار روی گیاهان یک‌ساله پهن برگ مهاجرت می‌کند و تا آخر تابستان روی این گیاهان فعالیت دارد. از اواخر تابستان دوباره روی درختان بر می‌گردد و پس از به وجود آوردن افراد نر و ماده و جفت‌گیری، تخم‌های زمستانه خود را روی این درختان قرار می‌دهد. در شرایط گلخانه و نواحی گرم این شته در تمام مدت سال به صورت غیر جنسی فعالیت دارد و در آنها افراد نر به وجود نمی‌آید (Kennedy *et al.*, 1962). در سال‌های اخیر ترکیبات سنتتیک و هورمون‌های زیادی نظیر بتآمینو بوتیریک اسید (BABA)، جاسمونیک اسید (JA)، سالیسیلیک اسید (SA)، متیل سالیسیلیک (MeSA)، بنزوتیدازول (BTH) و غیره برای کنترل آفات و بیماری‌ها بدون نشان دادن اثر آنتی‌بیوسیتی مستقیم آنها، به کار برده شده است (Thaler *et al.*, 1996; Conrath, 2009; Walling, 2000; Vancanneyt *et al.*, 2001; VanPoecke and Dicke, 2004). پاسخ‌های دفاعی سلول توسط پدیده مقاومت القایی افزایش می‌یابد. این پاسخ‌ها شامل پاسخ فوق حساسیت، تقویت دیواره سلولی، انفجار اکسیداتیو و بیان ژن‌های دفاعی مختلف می‌باشد (Cohen *et al.*, 1994). سیستم‌های القایی مختلفی برای ایجاد مقاومت در گیاهان وجود دارد از جمله این سیستم‌ها، سیستم SAR (Systemic Acquired Resistance) است (Sheng *et al.*, 2004). القای SAR نیاز به تجمع مولکول‌های سالیسیلیک اسید دارد که فعالیت یک سری از ژن‌های PR (*pathogenesis-related*) را تحریک می‌کند. البته مکانیسم SAR می‌تواند بعد از کاربرد خارجی موادی مانند سالیسیلیک اسید و بتآمینو بوتیریک

اسید القاء شود (Jakab *et al.*, 2001). دیناری و همکارانش در تحقیق خود نشان دادند که غلظت‌های ۶۰۰ و ۸۰۰ میکرو مولار سالیسیلیک اسید باعث القای مقاومت در گندم علیه شته روسی گندم می‌شود (Dinary *et al.*, 2015). در تحقیقی دیگر، به کارگیری سالیسیلیک اسید باعث مقاومت گیاه کلزا (رقم اکاپی) علیه شته مومی کلم شد (Lotfi *et al.*, 2014). در سال ۲۰۰۵ گامز و همکارانش اثر سیلیکون (کلسیم سیلیکات) و آلودگی قبلی با شته را روی القای مقاومت به افت *Schizaphis graminum* در گیاه گندم بررسی کردند. آنها بیان داشتند که سیلیکون و آلودگی قبلی با شته باعث القای مقاومت به گیاهان گندم در برابر آفت مذکور می‌شود (Gomes *et al.*, 2005). تی آی و زهانگ در سال ۲۰۰۹ اثر کاربرد خارجی کلرید مس روی گیاه کتان را بررسی کردند. آنها چنین بیان داشتند که کلرید مس باعث افزایش تجمع متابولیت‌های ثانویه‌ای چون تربنوتید، تانن و فلاونوئیدها و در نتیجه افزایش مقاومت گیاه به حشرات می‌شود (Ti and Zhang, 2009). ترکیباتی چون ۲ و ۶ دی کلرو ایزونیکوتینیک اسید (INA)، بتآمینو بوتیریک اسید (BABA) و بنزوتیدازول (BTH) باعث بیان ژن‌های SAR و القای مقاومت می‌شوند (Edreva, 2004). بر اساس تحقیق Cao *et al.* (2014) در سال ۲۰۱۴ که روی گیاه گندم انجام شده است، BABA می‌تواند مقاومت به آفت *Sitobion avenae* F. را در گندم القا کند. در این تحقیق اثر بتآمینو بوتیریک اسید و سالیسیلیک اسید از نظر فنوتیپی و مولکولی، روی القای مقاومت بر علیه شته سبز هلو در گیاه باقلا بررسی شده است.

## روش بررسی

**پرورش شته‌ها:** شته‌ها روی برگ‌های باقلا روی آگار رشد و تکثیر یافتند. برای تهیه محیط کشت ۳/۵ گرم آگار میکروبیولوژی در ۵۰۰ میلی لیتر آب حل و درون ارلن ۱۰۰۰ میلی لیتر ریخته و درب آن با فویل و گاز سترون بسته شد. ارلن حاوی آب آگار به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شد (Salari *et al.*, 2010). محیط کشت اتوکلاو شده درون

دیگری به‌همین ترتیب آماده و با BABA (۲۵۰ ppm) تیمار شدند.

**آزمایش گلخانه‌ای:** در این آزمایش گلدان‌ها در یک قفس توری به ابعاد ۲ متر × ۲ متر قرار داده شدند. در مرحله ۴-۶ برگی ابتدا شته‌ها روی بوته‌ها قرار داده شدند. برای آلوده‌سازی گیاهان از شته‌های ماده بالغ آماده پوره‌زائی استفاده گردید. بدین‌منظور شته‌ها همراه با برگ محل زندگی‌شان برداشته و به‌صورت وارونه روی سرشاخه‌های گیاهان قرار داده شدند (به ازاء هر برگ ۲ شته). ۲ روز بعد که شته‌ها کاملاً مستقر شدند، بوته‌ها تیمار شدند. ۳ روز بعد اولین آماربرداری انجام شد. بدین‌ترتیب که در هر بوته یک برگ از بالا و یک برگ از پایین به‌طور تصادفی انتخاب شد و تعداد شته‌های زنده روی آن شمارش و یادداشت شد. ۶ روز بعد دومین و ۹ روز بعد سومین آماربرداری انجام و نتایج یادداشت شد. در تمام مدت آزمایش خاک گلدان‌ها با فاصله ۳ روز یک‌بار آبیاری شد. در این مدت گلدان‌های شاهد در قفس توری نگهداری و با آب مقطر آبیاری شدند.

**آنالیز واریانس:** نتایج حاصل از نمونه‌برداری آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه و تحلیل شدند. مقایسه میانگین داده‌ها توسط آزمون دانکن صورت گرفت. نمودارها توسط نرم‌افزار اکسل رسم شدند.

**آزمایش مولکولی:** در این آزمایش گلدان‌ها در یک قفس توری به ابعاد ۲ متر (طول) × ۲ متر (ارتفاع) × ۱،۵ متر (عرض) قرار داده شدند. آلوده‌سازی در مرحله ۴-۶ برگی و مطابق بند ۲،۳ انجام شد. ۲ روز بعد که شته‌ها کاملاً مستقر بودند، بوته‌ها تیمار شدند. ۸ ساعت بعد اولین نمونه‌برداری انجام شد، بدین‌ترتیب که از هر بوته، ۵ برگ باقلا (که حدوداً ۲ گرم می‌شود)، چیده شد. در فویل پیچیده و در ازت مایع نگهداری شد. ۷۲ ساعت بعد دومین نمونه‌برداری انجام شد. RNA آن استخراج شد. cDNA ساخته و برای بررسی بیان ژن استفاده شد. در تمام مدت

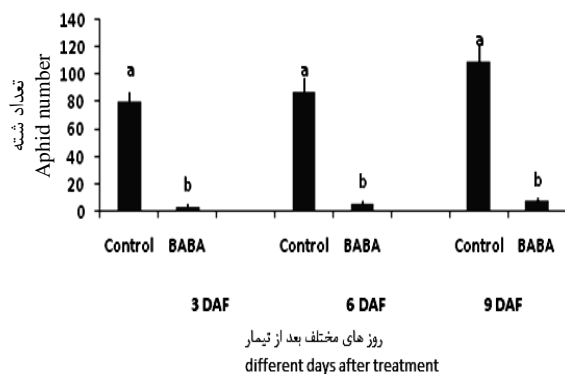
ظرف‌های یک‌بار مصرف کوچک با ابعاد ۵ سانتی‌متر (قطر) در ۴ سانتی‌متر (ارتفاع) ریخته شد. بعد از ۱۰ دقیقه محیط می‌بندد. برگ‌ها روی محیط کشت منجمد شده قرار داده شدند. نقش آب آگار تامین رطوبت برگ‌ها بود و برگ‌ها محل تکثیر و پرورش شته‌ها بودند. برای جابه‌جا کردن شته‌ها از قلم موی چهار صفر استفاده شد. قلم موی چهار صفر را در آب زده تا نوک آن کمی مرطوب شود، بعد شته‌ها با آن برداشته و روی برگ‌ها گذاشته شدند. معمولاً ۳-۴ شته روی هر برگ کافی است. درب‌های کوچکی از جنس تور ارگانیک روی ظرف‌ها گذاشته و با کش بسته شدند. ظرف‌ها در سینی قرار داده شده و در اتاقک رشد با دمای ۲۵ درجه سلسیوس، ۱۴ ساعت نور و رطوبت نسبی تقریبی ۴۰ درصد نگهداری شدند. بعد از گذشت یک هفته شته‌ها پوره‌زایی کرده و برای تکثیر بعدی آماده شدند. تعداد شته‌های هر ظرف (کلنی) به‌طور متوسط تا ۲۵ عدد افزایش یافت. زمان‌بندی تکثیر شته‌ها به گونه‌ای بود که هنگام ۴-۶ برگی شدن گیاهان باقلا، شته کافی وجود داشت (Salari et al., 2010).

#### تیمار گیاهان با سالیسیلیک اسید و بتا‌آمینوبوتیریک

**اسید:** دانه‌های باقلا (*Vicia faba linea cv Aquadulce*) در گلدان‌هایی با ابعاد ۱۰ سانتی‌متر قطر با ۱۵ سانتی‌متر ارتفاع و پر شده با خاک سترون، کاشته شدند. گلدان‌ها در گلخانه نگهداری شدند (در این آزمایش ۱۶ تکرار در نظر گرفته شد). شرایط گلخانه‌ای  $1 \pm 28$  درجه سلسیوس (روز و شب) با ۱۴ ساعت نور طبیعی و رطوبت نسبی تقریبی ۶۰ درصد اعمال شد. زمانی که گیاهان به مرحله ۴-۶ برگی و ارتفاع ۱۰-۸ سانتی‌متری رسیدند، برای هر گلدان ۲ گیاه نگهداری و بقیه حذف شدند. برگ‌ها با تیمار سالیسیلیک اسید (Imm) اسپری شدند (۱۵ سی‌سی برای هر گلدان). البته اسپری برگی گیاهان شاهد با آب مقطر صورت گرفت. بتا‌آمینوبوتیریک اسید و سالیسیلیک اسید از شرکت شیمیایی Sigma-Aldrich خریداری شدند. گلدان‌های

## نتیجه و بحث

آزمایش گلخانه‌ای: BABA و SA در هر سه زمان باعث کاهش تعداد شته‌ها شده بودند (شکل ۱ و ۲). همان‌طور که در شکل واضح است تعداد شته‌ها در اولین داده برداری (۳ روز اول) کمتر هستند و بعد از ۶ و ۹ روز تعدادشان رو به افزایش می‌نهد. به هر حال میانگین تعداد شته‌ها روی گیاهانی که توسط SA و BABA تیمار شده‌اند، همگی در یک کلاس (کلاس b) قرار گرفتند و گیاهان کنترل در هر سه داده برداری نیز در یک کلاس (کلاس a) قرار گرفتند.



شکل ۱- مقایسه میانگین تعداد شته‌ها روی گیاهان تحت تیمار BABA در زمان‌های متفاوت  $\pm$  انحراف استاندارد BABA: گیاهان تحت تیمار بتآمینو بوتیریک اسید، Control: گیاهان شاهد، DAF: روز بعد از تیمار کردن گیاهان آلوده به شته توسط بتآمینو بوتیریک اسید. حروف مختلف (a, b) در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است. A: بارها نشان‌دهنده انحراف استاندارد می‌باشند.

**Fig. 1.** Mean comparison of aphid number per plant under BABA treatments with different time points  $\pm$  SE. BABA: plant under  $\beta$ -aminobutyric acid treatment, DAF: Day after treatment with BABA on infested plants by aphids. Different letters (a, b) at each column denote significant differences

## آزمایش مولکولی

نتیجه آزمایش مولکولی نشان‌دهنده آن است که تیمار بتآمینو بوتیریک اسید و سالیسیلیک اسید نسبت به کنترل باعث افزایش بیان نسبی ژن کیتیناز شده است. این افزایش بیان در ۸ و ۷۲ ساعت بعد از آلودگی کاملاً مشهود است.

آزمایش خاک گلدان‌ها با تناوب یک روز در میان آبیاری شد. در این مدت گلدان‌های شاهد در قفس توری نگهداری و با آب مقطر آبیاری شدند.

## ۱- استخراج RNA از برگ‌های باقلا: استخراج براساس

روش پیشنهادی فاروق و همکاران انجام گردید (Farough *et al.*, 2007). کیفیت و خلوص RNA با استفاده از روش‌های اسپکتوفوتومتری (میزان جذب نور در طول موج‌های ۲۶۰/۲۸۰ نانومتر) و الکتروفورز روی ژل آگارز بررسی شد.

## ۲- آماده سازی cDNA (complementary DNA): جهت

سنتز cDNA ژن کیتیناز از Fermentas, First Strand cDNA Synthesis Kit استفاده شد. بدین منظور پس از استخراج RNA، از طریق رونوشت‌برداری معکوس از روی RNA تک رشته‌ای، توالی DNA مکمل (cDNA) تهیه شد. سپس در مرحله بعد توسط واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز توالی دو رشته‌ای DNA مربوط به ژن مورد نظر تکثیر شد.

## ۳- آزمایش بیان ژن کیتیناز توسط semi quantitative

PCR: به منظور آزمایش بیان ژن کیتیناز آغازگرهای اختصاصی زیر طراحی شدند (Farough *et al.*, 2007).

F: 5'-(ATTATTGTTCTTTTAGTCCT)-3'

R: 5'-(GGCGGCACGGGTAGGGGTGACATTG)-3'

همچنین از ژن 18s rRNA (ribosomal RNA) به عنوان

ژن نشانگر با پرایمرهای زیر استفاده گردید.

F: 5'-(AAGACGAACAACCTGCG)-3,

R: 5'-(CGACCATACTCCCCC)3'.

هر واکنش PCR شامل ۱  $\mu$ l از هر آغازگر، ۱  $\mu$ l از cDNA،

۷  $\mu$ l master mix (Fermentas) و ۱۳  $\mu$ l آب بود که در این

شرایط قرار داده شدند:

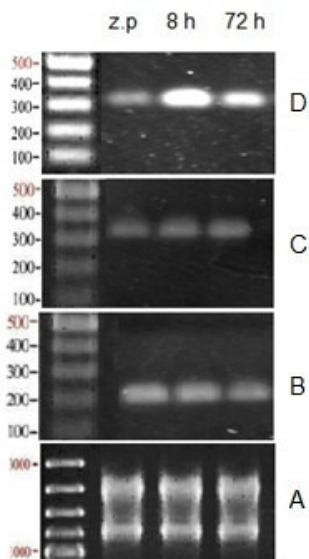
۹۴ درجه سلسیوس برای ۳ دقیقه، ۳۵ چرخه در ۹۴

درجه سلسیوس برای ۳۰ ثانیه، ۵۰ درجه سلسیوس برای ۱

دقیقه، ۷۲ درجه سلسیوس برای ۱ دقیقه و در نهایت ۷۲

درجه سلسیوس برای ۵ دقیقه.

F در گیاه کنجد سبب کاهش جمعیت حشرات سس، شته سبز هلو و مگس سفید گردید. به‌علاوه، افزایش عملکرد دانه کنجد را نیز به‌همراه داشته است.



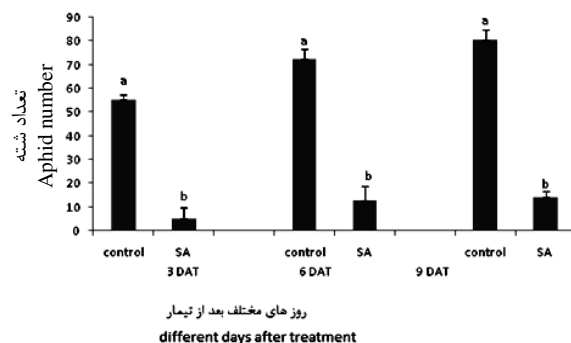
**شکل ۳-** افزایش بیان نسبی ژن کیتیناز گیاه باقلا تحت تیمار بت‌آمینو بوتیریک اسید. A: کل RNA موازنه شده، B: ژن 18S rRNA موازنه شده، C: ژن کیتیناز در گیاهان کنترل، D: ژن کیتیناز در گیاهان تیمار شده با بت‌آمینو بوتیریک اسید، Z.P: زمان صفر، 8 h: 8 ساعت بعد از تیمار کردن گیاهان آلوده به شته توسط بت‌آمینو بوتیریک اسید، 72 h: 72 ساعت بعد از تیمار کردن گیاهان آلوده به شته توسط بت‌آمینو بوتیریک اسید

**Fig. 3.** Semi increase of *chitinase* gene expression in faba been under BABA treatment. A: Total balanced RNA, B: Balanced 18S rRNA gene, C: *chitinase* gene expression in control plants, D: *chitinase* gene expression in treated plant with  $\beta$ -aminobutyric acid, Z.P: zero time point, 8 h: 8 hours after BABA treatment on infested plant by aphid, 72 h: 72 hours after BABA treatment on infested plant by aphid.

سالیسیلیک اسید به‌عنوان یک فیتوهورمون نقش مرکزی در سیگنال دفاعی گیاه دارد. میزان سالیسیلیک اسید در پاسخ به پاتوژن‌ها و آفات ایجاد شده افزایش می‌یابد و بیان ژن‌های PR را القا می‌کند (Mewis et al., 2006). کاربرد خارجی SA گیاهان را در برابر پاتوژن‌ها و آفات محافظت کرده و بیان ژن‌های PR را القا می‌کند. SA برای مسیر SAR مورد نیاز است. SAR حالت القا شده مقاومت است که در گیاه در پاسخ

میزان بیان ژن 18S rRNA به‌عنوان ژن نشانگر در هیچ‌کدام از مراحل نمونه‌برداری تغییر نکرد.

در این تحقیق اعمال تیمارهای BABA و SA سبب کاهش میانگین جمعیت شته‌ها بر روی برگ گیاه باقلا شدند.



**شکل ۲-** مقایسه میانگین تعداد شته‌ها روی گیاهان تحت تیمار SA در زمان‌های متفاوت  $\pm$  انحراف استاندارد SA: گیاهان تحت تیمار اسید سالیسیلیک، Control: گیاهان شاهد، DAF: روز بعد از تیمار کردن گیاهان آلوده به شته توسط بت‌آمینو بوتیریک اسید. حروف مختلف (a, b) در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است. I: بارها نشان‌دهنده انحراف استاندارد می‌باشند.

**Fig. 2.** Mean comparison of aphid number per plant under SA treatments with different time points  $\pm$  SE. SA: plant under salicylic acid treatment, DAF: Day after treatment with SA on infested plants by aphids. Different letters (a, b) at each column denote significant differences.

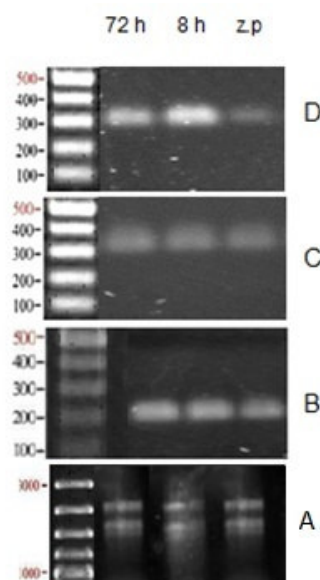
همچنین، بیان نسبی ژن کیتیناز تحت تأثیر تیمارهای BABA و SA توسط واکنش زنجیره‌ای پلیمرز نیمه کمی مورد ارزیابی قرار گرفت که نتایج نشان دادند که بیان نسبی ژن کیتیناز گیاهانی که تحت تیمارهای مذکور قرار گرفته بودند، نسبت به گیاهان شاهد بیشتر بود. این نتایج مؤید نتایج آزمایش وار و همکاران (War et al., 2015) از لحاظ تأثیر SA بر مقاومت به آفات بود. آنها در تحقیق خود از تیمارهای اسید سالیسیلیک و جاسمونیک برای کنترل کرم غوزه پنبه بر روی گیاه بادام‌زمینی استفاده نمودند. کاربرد خارجی SA و JA سبب افزایش تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در گیاه شد و رشد و نمو کرم غوزه را نیز کاهش داد. در تحقیقی، Mahmoud (2013) نشان داد که کاربرد خارجی SA + Potassin-

که مقاومت را در برابر طیف وسیعی از پاتوژن‌ها و آفات القا می‌کند. این ترکیب از طریق مکانیسم‌های دفاعی مختلفی عمل می‌کند که شامل موانع فیزیکی و تعییرات بیوشیمیایی است. شواهد نشان می‌دهد که بتآمینوبوتیریک اسید گیاهان را از طریق مکانیسم‌های ویژه مقاومت در برابر تنش‌ها محافظت می‌کند (Beheshti *et al.*, 2011; Eyles *et al.*, 2009). سبک عمل BABA به خوبی مشخص نشده است، اما چندین گزارش نشان داده‌اند که BABA تجمع پروتئین‌های PR را فعال می‌کند. برای مثال BABA تجمع پروتئین‌های PR3 (کتیناز) را در گیاه فلفل، گوجه‌فرنگی و تنباکو فعال می‌کند (Hwang *et al.*, 1997). از طرف دیگر در تحقیقی نشان داده شد که BABA مقاومت به بیماری را افزایش داد، ولی باعث تجمع پروتئین‌های PR در تنباکو نشد. بنابراین این شواهد نشان می‌دهد که پروتئین‌های PR نمی‌توانند تنها عامل ایجاد مقاومت باشند (Jakab *et al.*, 2001). پاسخ‌های دفاعی دیگری که توسط BABA القا می‌شود، شامل القای پاسخ فوق حساسیت (HR)، رسوب کالوز و تجمع لیگنین است. بنابراین BABA می‌تواند یا از طریق مسیر سیگنالی وابسته به SA و یا از طریق مسیر سیگنالی مستقل از SA مقاومت را در گیاهان القا کند (Cohen *et al.*, 1994). با توجه با تأثیر مثبت تیمارهای SA و BABA بر کنترل رشد و نمو شته سبز هلو و از طرف دیگر تأثیرات نامطلوب زیست‌محیطی گسترده کاربرد سموم شیمیایی پیشنهاد می‌گردد تا تحقیقات کاربردی بیشتر بر روی این تیمارها به منظور تجاری‌سازی استفاده از آنها و کاهش مصرف سموم شیمیایی انجام شود.

## References

- BEHESHTI, B., G. R. SHARIFI SIRCHI, M. A. MANSOURI and N. L. HOSSEINPOUR, 2011. Resistance to Citrus canker in key-mexican lime induced by  $\beta$ -amino butyric acid (BABA) and green tea, American journal of agricultural and biological sciences, No. 6: 242-248.

به پاتوژن‌ها و آفات نمایان می‌شود. القاء سیگنال SA و SAR در ارتباط با تجمع پروتئین‌های PR مانند کیتیناز (PR3) می‌باشد (Walling, 2008).



شکل ۴- افزایش بیان نسبی ژن کیتیناز گیاه باقلا تحت تیمار سالیسیلیک اسید. A: کل RNA موازنه شده، B: ژن 18S rRNA موازنه شده، C: ژن کیتیناز در گیاهان کنترل، D: ژن کیتیناز در گیاهان تیمار شده با سالیسیلیک اسید، Z.P: زمان صفر، 8 h: 8 ساعت بعد از تیمار کردن گیاهان آلوده به شته توسط سالیسیلیک اسید، 72 h: 72 ساعت بعد از تیمار کردن گیاهان آلوده به شته توسط سالیسیلیک اسید

**Fig. 4.** Semi increase of *chitinase* gene expression in faba bean under SA treatment. A: Total balanced RNA, B: Balanced 18S rRNA gene, C: *chitinase* gene expression in control plants, D: *chitinase* gene expression in treated plant with Salicylic acid, Z. P: zero time point, 8 h: 8 hours after SA treatment on infested plant by aphid, 72 h: 72 hours after SA treatment on infested plant by aphid

نتایج تأثیر BABA در تحقیق حاضر مؤید کشف Cao *et al.* (2014) مبنی بر تأثیر مثبت این ماده بر روی شته سبز بود. آنها مشاهده نمودند تیمار این ماده به صورت همراه با آبیاری خاک در گیاه گندم سبب کاهش رشد و توسعه این آفت گردید.

بتآمینو بوتیریک اسید یک اسید آمینه غیرپروتئینی است

- CAO, H. H., M. ZHANG, H. ZHAO, Y. ZHANG, X. X. WANG and S. S. GUO, 2014. Deciphering the Mechanism of B-Aminobutyric Acid-Induced Resistance in Wheat to the Grain Aphid, *Sitobion avenae*, Plos one, No. 9: e91768.
- CLEMENTS, K. M., C. E. SORENSON, B. M. WIEGMAN, and M. R. ROE, 2000. Insecticide resistance in the *Myzus persicae* complex (Homoptera: Aphididae) with emphasis on tobacco pest management, Reviews in toxicology, No. 3: 1-23.
- COHEN, Y., T. NIDERMAN, E. MOSINGER and R. FLUHR, 1994.  $\beta$ -aminobutyric acid induces the accumulation of pathogenesis - related proteins in tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) plants and resistance to late blight infection caused by *Phytophthora infestans*, Plant Physiology, No. 104: 5 - 66.
- CONRATH, U. 2009. Priming of Induced Plant Defense Responses, Advances in Botanical Research, No. 51: 361-395.
- DINARY, A., L. DOLATY, M. NEMATOLAHY and S. FORUTAN, 2015. Effects of different doses of SA, on wheat resistance induction against Russian aphid of wheat. The First Conferences on New Finding in Environment and Agricultural Ecosystems, Tehran. Iran.
- EDREVA, A. 2004. A novel strategy for plant protection: Induced resistance, Journal of Cell and Molecular Biology, No. 3: 61-69.
- ELYES, A., P. BONELLO, R. GANLEY and C. MOHAMMED, 2009. Induced resistance to pests and pathogens in trees, New Phytologist, No. 185: 893-908.
- FAROUGH, M. U., N. M. ABUZEID, K. H. EBADE, M. H. SOLEIMAN and N. F. AL BADUE, 2007. *Chitinase* gene in *vicia faba*, Arab Journal of Biotechnology, No. 10: 289-300.
- GOMES, F. B., J. MORAES, C. SANTOS and M. GOUSSAIN, 2005. Resistance induction in wheat plants by silicon and aphids, Science agriculture, No. 6.
- HWANG, B. K., J. Y. SUNWOO, Y. J. KIM and B. S. KIM, 1997. Accumulation of  $\beta$ -1, 3- glucanase and chitinase isoforms and salicylic acid in the DL -  $\beta$ -amino-*n* butyric acid - induced by  $\beta$  - aminobutyric acid and green tea, American Journal of Agricultural and Biological Sciences, No. 2: 242 - 248.
- JAKAB, G., V. COTTIER, V. TOQUIN, G. RIGOLI and L. ZIMMERLI, 2001.  $\beta$ -aminobutyric acid induced resistance in plants, Journal Plant Pathology, No. 107 : 29-37.
- KENNEDY, J. S., M. F. DAY and V. F. EASTOP, 1962. A conspectus of aphids as vector of plant viruses, Commonwealth Institute of Entomology: CAB London.
- KLINGLER, J., R. CREASY, L. GAO, R. M. NAIR, A. S. CALIX, H. S. JACOB, O. R. EDWARDS and K. B. SINGH, 2005. Aphid resistance in *Medicago truncatula* involves anti xenosis and phloem-specific, inducible antibiosis, and maps to a single locus flanked by NBS-LRR resistance gene analogs, Plant Physiology, No. 4: 1445-55.
- LOTFI, R., L. DOLATI and F. SHEKARI, 2014. Effect of SA on rapeseed (*Brassica napus*) resistance induction against cabbage aphid in greenhouse. The Second National Conference on Climate Change and Its Effect on Africulture and Environment. West Azarbaijan. Iran.
- MAHMOUD, M. F. 2013. Induced plant resistance as a pest management tactic on piercing sucking insects of sesame crop, Arthropods, No. 2: 137-149.
- MEWIS, I., J. G. TOKUHISA, J. C. SCHULTZ, H. M. APPEL, C. ULRICHS and J. GERSHENZON, 2006. Gene expression and glucosinolate accumulation in *Arabidopsis thaliana* in response to generalist and specialist herbivores of different feeding guilds and the role of defense signaling pathways, Phytochemistry, No. 67: 2450-2462.
- MORAN, P. J. and G. A. THOMPSON, 2001. Molecular responses to aphid feeding in Arabidopsis in relation to plant defense pathways, Plant Physiology, No. 125: 1074-1085.
- SALARI, E., K. AHMADI and R. ZAMANI, 2010. Study on the effects of acetonic extract of *Otostegia persica* (Labiatae) on three *Aphid* species and one stored product pest, Advances in Environmental Biology, No. 4: 346-349.

- SHENG, L., Z. ZHI-AN, L. MING, G. ZHEN-RONG, B. CHEN and H. WEI-DA, 2004. Purification and characterization of a novel chitinase from *Bacillus brevis*, *Biochemical Biophysic*, No. 34: 690-696.
- THALER, J. S., M. J. STOUT, R. KARBAN and S. S. DUFFEY, 1996. Exogenous jasmonates simulate insect wounding in tomato plants (*Lycopersicon esculentum*) in the laboratory and field, *Journal of Chemical Chology*, No. 22: 1767-1781.
- TI, X. and Q. ZHANG, 2009. Advances in research of induced resistance to insects in cotton, *Front Biology*, No. 4: 289- 297.
- VANCANNEYT, G., C. SANZ, T. FARMAKI, M. PANEQUE, F. ORTEGO, P. CASTANERA and J. J. SANCHEZ-SERRANO, 2001. Hydroperoxide lyase depletion in transgenic potato plants leads to an increase in aphid performance, *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, No. 14: 8139-44.
- VANPOECKE, R. M. P. and M. DICKE, 2004. Indirect defense of plants against herbivores, using the *Arabidopsis thaliana* as a model plant, *Plant Biology*, No. 6: 387-401.
- WALLING, L. L. 2000. The myriad plant responses to herbivores, *Journal of Plant Growth Regulator*, No. 19: 195-216.
- WALLING, L. L. 2008. Avoiding effective defenses, Strategies employed by phloem-Feeding Insects, *Plant Physiology*, No. 146: 859-86.