ارزیابی تغییرات شاخص‌های فیزیولوژیک در ارقام گلرنگ القا شده تحت تنش زیستی

سید مظفر منصوری[۱*]، محسن مهرپرور[۱]، مطهره امیری دوماری[۱] و حسین مظفری[۲]

[۱] **ایران، کرمان، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، گروه تنوع زیستی**

[۲] **ایران، کرمان، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، گروه اکولوژی**

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۶/۸

چکیده

گیاهان دارای مکانیسم‌های دفاعی متنوعی هستند که اغلب تحت تنش‌های غیرزنده و زنده در آنها القاء می شوند. مقاومت القایی سبب می‌شود که کارایی یا ترجیح میزبانی گیاهخوارانی که به گیاه حمله می‌کنند، کاهش یابد. در پژوهش حاضر، در مرحله اول چهار رقم تجاری گلرنگ شامل صفه، گلدشت، فرامان، محلی اصفهان و گونه وحشی گلرنگ، *Carthamus oxyacantha*، مورد تغذیه لارو کرم قوزه پنبه *Helicoverpa armigera* (Lep.: Noctuidae) قرار گرفتند. سپس لاروها حذف شد و این گیاهان به مدت ۷۲ ساعت بدون آلودگی نگهداری شدند. در مرحله بعدی تعداد چهار شته بالغ بی‌بال شته گلرنگ *Uroleucon carthami* (Hem.: Aphididae) روی گیاهان از قبل مورد تغذیه لارو قرار گرفته و همان تعداد گیاهان شاهد بدون تغذیه قبلی قرار داده شدند و اجازه داده شد که به مدت ۱۵ روز تغذیه و تولیدمثل کنند. نتایج نشان داد که تغذیه لارو کرم قوزه به عنوان عامل القاکننده مقاومت در گیاه گلرنگ تاثیر معنی داری بر شاخص‌های فیزیولوژیک گیاه داشته است. شاخص‌هایی مانند پراکسید هیدروژن، آمینواسیدهای کل، میزان پروتئین کل، پرولین و قندهای احیا کننده در گیاه گلرنگ به خوبی تحت تاثیر تنش زیستی تغذیه لارو در مقایسه با گیاهان شاهد قرار گرفتند. این تغییرات نشان می دهد که پاسخ ارقام مختلف گلرنگ به پیش تغذیه توسط لارو کرم قوزه پنبه یکسان نبوده و ارقامی مانند محلی اصفهان سازگاری بهتری در جهت مقاومت القایی و تجمع متابولیت‌های مهم مانند آب اکسیژنه، پرولین، قند و پروتئین از خود نشان داده اند.

واژه های کلیدی: آب اکسیژنه، شته گلرنگ، لارو کرم قوزه پنبه، مکانیسم دفاعی گیاهان

*نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۳۱۹۷۳۵۰۵، پست الکترونیکی: m.mansouri.89@gmail.com

مقدمه

گیاه گلرنگ، *Crathamus tinctorius* L. از تیره کاسنیان (Asteraceae) و بومی خاورمیانه بوده که در بیشتر کشورهای جهان به عنوان گیاهی با خواص برجسته، کشت می‌شود (۴). گلرنگ گیاهی یک ساله علفی و خود گرده - افشان است که بذر آن حاوی روغن با کیفیت بالا و غنی از اسیدهای چرب غیر اشباع اولوئیک اسید و لینولوئیک اسید است. این گیاه جدا از آنکه به عنوان یک گیاه روغنی شناخته می‌شود دارای خواص دارویی نیز می‌باشد. به دلیل قابلیت‌هایی نظیر قدرت سازگاری بالا، مقاومت به سرما، مقاومت نسبی به خشکی، شوری خاک و موارد مصرف متعدد در بسیاری از کشورها به طور گسترده کشت می‌شود (۴، ۵، ۱۵ و ۴۴). این گیاه در طول دوره‌های مختلف رشدی ممکن است توسط آفات حشره‌ای مختلفی مورد تغذیه قرار گیرد. از مهم‌ترین آفات گلرنگ می‌توان به مگس گلرنگ *Acanthiophilus helianthi* Rossi (Dip: Tephritidae)، سنک تخم گلرنگ *Oxycarneus pallens* (Herrich-Schäffer) (Hem: Lygaeidae)، زنجرک گلرنگ *Empoasca decipiens* Paoli (Hem: Cicadellidae)، سن گلخوار *Lygus pratensis* (L.) (Hem: Miridae)، سرخرطومی گلرنگ *Larinus*

flavescens Germar (Col: Curculionidae)، کرم قوزه پنبه *Helicoverp armigera* (Hübner) (Lep: Noctuidae) و شته گلرنگ *Uroleucon carthami* (Hille Ris Lambers, 1948) (Hem.: Aphididae) اشاره نمود که در اثر تغذیه به گلرنگ خسارت قابل توجهی وارد می‌سازند (۲). شته‌ها به عنوان آفات مهم کشاورزی شناخته شده و یکی از مهمترین گروه‌های حشرات گیاه‌خوار هستند. شته-ها به دلیل بکرزایی، توانایی تولید مثل بالایی داشته و همچنین به دلیل اینکه اکثر آن‌ها چند میزبانه هستند قدرت زنده‌مانی بالایی دارند. از این رو می‌توانند خسارت اقتصادی قابل توجهی را وارد آورند. شته‌ها به کمک قطعات دهانی زننده- مکنده خود از شیره پرورده گیاهی در آوندهای آبکش تغذیه می‌کنند. همچنین شته‌ها عامل انتقال برخی از بیماری‌های ویروسی می‌باشد (۳). شته گلرنگ *U. carthami*، به رنگ قهوه‌ای متمایل به قرمز تا قهوه‌ای متمایل به مشکی می‌باشد. اندازه آن‌ها بین ۲/۱ تا ۳/۳ میلی متر می‌باشد (۳).

علاوه بر مقاومت ذاتی درگیاهان که شامل عدم رجحان، آنتی بیوز و تحمل که به صورت ارثی بروز می‌کنند، یکی از انواع مقاومت گیاهان به گیاهخواران، القای مقاومت یا مقاومت القا شده در گیاهان است. اصطلاح مقاومت القایی به منظور توصیف دفاع گیاهانی که در اثر خسارت حشرات القا می‌شوند، بکار می‌رود برای آنکه معمولا گیاهان کمتر در معرض طغیان‌های بعدی توسط حشرات یا بیماری‌ها قرار می‌گیرند (۲۰ و ۲۲). به عبارت دیگر، این تغییرات می‌توانند مقاومت گیاهان را در برابر طغیان‌های بعدی گیاه-خواران از طریق کاهش کارایی و کاهش رجحان گیاه-خواران روی گیاهان خسارت دیده افزایش دهند. گیاهان القا شده اثرات گوناگونی روی زیست‌شناسی، فیزیولوژی و رفتار حشرات مرتبط با خود می‌گذارند. به عنوان مثال مقاومت القایی روی کارایی یک حشره آفت به وسیله کاهش یا افزایش تعداد کل حشرات و یا روی کیفیت غذایی گیاه میزبان اثر می‌گذارد (۶ و ۷ و ۱۷). مطالعات بسیاری نشان داده‌اند که تولید متابولیت‌های شیمیایی ثانویه در گیاهان در اثر آلودگی‌های قبلی آفات روی فیزیولوژی حشرات تاثیر منفی گذاشته و موجب مرگ و میر و یا به تاخیر افتادن طول دوره‌ی نشو و نمای آن‌ها می‌شود (۳۹). به‌طورکلی می‌توان گفت مقاومت القایی ایجاد شده در گیاه باعث کاهش نرخ بقاء در مرحله نابالغی حشره، کاهش نرخ نشو و نما، کاهش تخمریزی و همچنین کاهش رشد جمعیت می‌شود (۳۶ و ۴۲). مقاومت القایی می‌تواند به عنوان یک ابزار افزایش دهنده مکانیسم‌های دفاع طبیعی گیاه در مقابل انواع حشرات و پاتوژن‌ها مطرح گردد که توسط طیفی از فاکتورها برانگیخته می‌شود. دراین سیستم، گیاه یا به صورت مستقیم در مرحله‌ای از رشد تحت تاثیر عوامل استرس‌زا و خسارت‌زای زنده شامل، تغذیه حشرات آفت و یا حمله عوامل بیماری‌زا قرار می‌گیرد و یا به صورت غیرمستقیم تحت تاثیر عوامل غیر زنده مانند تنش-های محیطی، صدمات فیزیکی و یا از گیاه مجاوری که تحت اثر تنش، القای مقاومت درآن صورت گرفته است، مقاومت القا می‌شود (۲۱). این نوع مقاومت می‌تواند نسبت به باکتری‌ها، ویروس‌ها، نماتدها، حشرات و پستانداران گیاه‌خوار ایجاد شود (۸). این واکنش‌های القایی زمانی در کنترل یک آفت مفید خواهند بود که موجب افزایش حساسیت گیاهان نسبت به سایر حشرات گیاه‌خوار، عوامل بیمارگر و شرایط غیرزنده نشوند (۶). القای مقاومت در سیستم سه‌گانه متقابل، گیاه- حشره آفت- دشمن طبیعی آفت، می‌تواند به دو روش مستقیم و غیرمستقیم ایجاد گردد. در روش مستقیم، مقاومت القایی توسط پروتئین‌های رها شده جهت محافظت گیاهان در مقابل حشرات ایجاد می‌شود و یا گیاه ممکن است برای کاهش تغذیه، تخمریزی و نشو و نما گیاه‌خوار مواد شیمیایی دفاعی تولید کند (۳۲ و ۳۱). در روش غیر مستقیم، مقاومت القایی در اثر رهاسازی ترکیبات فرار جهت جلب دشمنان طبیعی گونه‌های گیاه‌خوار که روی گیاهان تغذیه می‌کنند، ایجاد می‌شود (۱۲). واکنش گیاهان در اثر خسارت وارد شده

توسط حشرات گیاه‌خوار اغلب موجب افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه زیان‌بار برای حشرات خسارت‌زا می‌شود (۸). به عنوان مثال، افزایش میزان تولید جاسمونیک اسید، سالیسیلیک اسید، آمینوبوتریک اسید (۱۶، ۱۸ و ۲۸) و پروتئین‌های بازدارنده‌ی تغذیه (۲۹) می‌توانند به عنوان مکانیسم دفاع القایی میزان خسارت حشرات گیاه‌خوار را کاهش دهند. واکنش‌های دفاعی گیاهی مانند تولید ترکیبات فنلی و هورمون‌های گیاهی از جمله سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید بوسیله‌ی سیگنال‌هایی در اثر خسارت قبلی حشرات القا می‌شود (۱۴ و ۲۶). علاوه بر عوامل القا کننده که ذکر شده است پروتئین‌های مهارکننده (باز دارنده‌های پروتئینی) نیز در القای مقاومت نقش دارند. عملکرد بازدارنده‌های پروتئیناز، مسدود کردن پروتئازهای گوارشی در سیستم گوارشی گیاه‌خوار است (۲۸). در یک پژوهش تاثیر سالیسیلیک اسید به عنوان یک ترکیب القا کننده جهت القای مقاومت در پنبه نسبت به کرم قوزه پنبه بررسی شد (۱۰). مقاومت القایی نسبت به گیاه‌خواران در سایر گیاهان از جمله گندم، سویا، گوجه فرنگی، ذرت، پنبه و سیب زمینی مشاهده شده است (۱۷ و ۴۰). مطالعات انجام گرفته روی گیاه تربچه و رفتار گیاه‌خواری لاروهای *Trichoplusia ni* (Hübner) روی کلم نشان داده است که دفاع شیمیایی القایی در گیاه تربچه باعث کاهش قابل توجهی در نرخ رشد جمعیت این آفت می‌شود، به طوری‌که مقاومت القایی ایجاد شده در گیاه باعث کاهش نرخ بقاء در مرحله نابالغ حشره، به تاخیر افتادن نشو ونما، کاهش تخم‌گذاری و همچنین توقف رشد جمعیت می‌شود (۳۱). در مطالعه‌ای مشخص شد که گیاهان تریتیکاله مورد تغذیه قرار گرفته توسط شته غلات، *Sitobiom avenae* Mordvilko ، سبب افزایش میزان تولید آسکوربات و همچنین فعالیت آنزیم آسکوربات پروکسیداز شده است(۲۴). در بررسی مقاومت القایی در برگ‌های گیاهان ذرت و سیب دیده شده است که برگ‌های این گیاهان ترکیبات فرار و متفاوتی در واکنش به خسارت گیاه‌خواران به بیرون تراوش می‌کنند (۳۸). در بررسی دیگر آلوده‌سازی پیشین دو رقم هلو به وسیله شته‌ی سبز هلو مورد مطالعه قرار گرفته است (۳۰). در آزمایشی دیگر پیش آلوده سازی گیاه گوجه فرنگی به شته سیب‌زمینی، *Macrosiphum euphorbiae* Thomas انجام گرفته است (۲۰). هچنین آلودگی‌های پیشین گیاه گوجه فرنگی به سفید بالک *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring بررسی شده است (۲۵). آلودگی‌های پیشین گیاه پنبه به شته سبز جالیز، *Aphis gossypii* Glover نیز مورد مطالعه قرار گرفت است (۴۴).

مطالعه مقاومت القایی، میزان و مدت زمان القای مقاومت و تاثیر آن روی آلودگی گیاه به وسیله گیاهخواران دیگر و تاثیر مقاومت بر تغییرات جمعیت و فیزیولوژی این گیاهخواران و همچنین مطالعه تغییرات ایجاد شده در اثر القای مقاومت در میزان تجمع ترکیبات بیوشیمیایی گیاه مانند متابولیت‌های اولیه (قند و پروتئین) و حتی ترکیبات ثانویه مانند آب اکسیژنه (H_2O_2) در گیاهان از اهمیت زیادی برخوردار است، این پژوهش جهت مطالعه مقاومت القایی در برخی ارقام گلرنگ در اثر تغذیه قبلی لارو کرم قوزه پنبه به عنوان یک آفت با نوع تغذیه جونده روی جمعیت شته گلرنگ پرورش یافته روی گیاهان از قبل آلوده و گیاهان شاهد بدون آلودگی قبلی انجام شد. بحث ایجاد یا عدم ایجاد مقاومت القایی در گیاه گلرنگ و مقایسه میزان القای مقاومت در ارقام مختلف گلرنگ یکی از فاکتورهای مهمی است که در اینجا مورد مطالعه و مقایسه قرار می‌گیرد. بنابراین اهداف اصلی این مطالعه شامل بررسی ایجاد مقاومت القایی توسط تغذیه لارو کرم قوزه پنبه در ارقام مختلف گیاه گلرنگ و گونه وحشی و اثر متقابل آن‌ها بر رشد و تولید مثل شته گلرنگ و همچنین بررسی پاسخ فیزیولوژیک پنج رقم گیاه گلرنگ (صفه، گلدشت، فرامان، محلی اصفهان و گونه وحشی) مورد آزمایش به عامل القا کننده مقاومت بودند.

مواد و روشها

تهیه بذرها و پرورش گیاهان: بذرهای چهار رقم گلرنگ شامل ارقام صفه، گلدشت، فرامان، محلی اصفهان از شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی واقع در اصفهان تهیه شدند. بذرهای گلرنگ وحشی *Carthamus oxyacantha* از محوطه دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان جمع‌آوری شدند. برای کشت گیاه گلرنگ از گلدان‌های پلاستیکی به قطر ۱۴ و ارتفاع ۱۸ سانتی‌متر استفاده شد. بذرهای گلرنگ در عمق نیم سانتی‌متری از سطح خاک کشت شدند. خاک مورد استفاده جهت کشت گیاهان با نسبت ۴۰ درصد خاک رس، ۴۰ درصد ماسه و ۲۰ درصد مواد آلی به عنوان بستر کشت بود. ابتدا در هر گلدان پنج بذر در عمق نیم سانتی‌متری از سطح خاک کشت شدند. به دلیل تاخیر در زمان جوانه‌زنی بذرهای گونه‌ی وحشی، این بذرها پنج روز زودتر از سایر ارقام گلرنگ کاشته شدند. پس از سبز شدن بذرها دو عدد از گیاهچه‌ها نگه داشته شده و بقیه حذف شدند و به منظور مشخص بودن ارقام گلدان‌ها کدگذاری شدند. آبیاری گیاهان با توجه به نیاز گیاه انجام شد. در مرحله چهار برگی، زمانی که از بقای گیاه اطمینان حاصل شد تنها یک گیاه در گلدان باقی گذاشته شد.

پرورش شب‌پره کرم قوزه پنبه: برای پرورش شب پره کرم قوزه پنبه *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae)، تعدادی بلال ذرت و میوه گوجه فرنگی آلوده به لارو آفت از مزارع اطراف ماهان در استان کرمان جمع آوری شدند و با قرار دادن در ظروف پلاستیکی با درب توری به آزمایشگاه منتقل شدند. در آزمایشگاه لاروها در ظرف مخصوصی به طول ۱۰۰ و عرض ۷۰ سانتی متری که کف آن حاوی مقداری خاک اتوکلاو شده بود، قرار داده شدند. سپس شفیره های تشکیل شده از قفس خارج و در ظروف جداگانه‌ای قرار داده شدند. پس از ظهور حشرات کامل هر جفت از آن‌ها را داخل ظروف شیشه‌ای با درب توری جهت جفتگیری نگهداری شدند. سپس حشرات ماده جفت گیری کرده به داخل قفس های توری منتل شدند و تخم‌های خود را روی برگ های بوته های گلرنگ قرار داده شده داخل قفس قرار می‌دادند. روزانه برگ‌های حاوی تخم حشره داخل پتری ظروف کوچک پلاستیکی روی پنبه مرطوب قرا داده شدند. تخم‌ها سه تا پنج روز بعد تفریخ شدند. در این تحقیق از تخم‌های همسن برای آزمایش استفاده شد. لاروهای خارج شده از تخم به طور جداگانه روی بوته‌های گلرنگ پرورش داده شدند و از لاروهای سن سوم جهت انجام آزمایش‌ها استفاده شد.

پرورش شته‌ها: در این تحقیق از شته (Aphididae: Hemiptera) *Uroleucon carthami* استفاده شد. برای تهیه کلنی این شته، از افراد بی بال بالغ از کلنی موجود در گلخانه پژوهشی دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان استفاده شد. کلونی شته‌ها روی گیاه گلرنگ در قفس‌هایی به طول ۴۸ و عرض ۳۲ سانتی‌متر که با توری با بافت ریز پوشیده شده بودند در گلخانه تحت شرایطی مشابه با شرایط پرورش گیاهان پرورش داده شدند. به منظور حفظ کلنی شته‌ها هر هفته گیاهان آلوده به شته با گیاهان جدید جایگزین می‌شدند.

بررسی میزان القای مقاومت در ارقام مختلف گلرنگ و گلرنگ وحشی در اثر تغذیه لارو کرم قوزه پنبه: گیاهان کشت شده پس از رشد و رسیدن به مرحله شش برگی در ۱۰ بلوک به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی قرار گرفتند. بدین صورت که در هر بلوک آزمایشی پنج تیمار و پنج شاهد وجود داشت که شامل چهار رقم و یک گونه گلرنگ وحشی بود. در مجموع ۵۰ بوته به عنوان تیمار به طور تصادفی انتخاب و کدگذاری شدند. در هر بلوک آزمایشی یک بوته از هر رقم گلرنگ به عنوان تیمار و یک بوته از هر رقم به عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. تعداد یک عدد لارو سن سوم کرم قوزه پنبه بعد از ۱۲ ساعت

گرسنگی روی هریک از بوته‌های مربوط به تیمار قرار داده شد و به مدت یک هفته ، هر لارو روی هر بوته روزانه یک ساعت جهت تغذیه قرار داده شد و بعد از تغذیه به مدت ۷۲ ساعت به گیاهان استراحت داده شد. بوته‌های شاهد در هر بلوک بدون آلودگی به لارو نگهداری شدند. گیاهان با طلق‌های شفاف استوانه‌ای با قطر ۱۲/۵ و ارتفاع ۳۴ سانتی‌متر که در انتهای آن توری ظریفی جهت تبادل هوا قرار داده شده بود پوشیده شدند. سپس در مرحله بعد تعداد چهار شته بالغ بی‌بال روی همه بوته‌های آزمایشی شامل بوته‌های تیمار شده و بوته‌هایی که به عنوان شاهد از ابتدا بدون تغذیه لارو بودند قرار داده شدند. پس از گذشت ۱۵ روز تمام شته‌ها روی کلیه بوته‌ها جمع‌آوری شدند. سپس شته‌های هر گیاه به طور مجزا در ظروف شیشه‌ای حاوی الکل اتیلیک (اتانول) ۷۵ درصد ریخته شدند. در زمان مناسب با استفاده از استریومیکروسکوپ شته‌ها مورد شمارش قرارگرفتند.

سنجش شاخص های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاهان تحت تنش زیستی: سنجش میزان قند های احیا کننده: برای سنجش میزان قند های احیا کننده از روش Somogy (۳۴) استفاده شد. ۰/۲ گرم از اندام هوایی گیاه با ۱۰ میلی لیتر آب مقطر در هاون چینی سائیده شد. عصاره حاصل پس از حرارت سانتریفیوژ شد و عصاره گیاهی حاوی قند ها به دست آمد. مقدار ۲ میلی لیتر از هر یک از عصاره های تهیه شده به لوله آزمایش منتقل شد و پس از افزودن ۲ میلی لیتر محلول سولفات مس به آنها، سر لوله ها با پنبه بسته شد و به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب گرم (بن ماری) با دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. سپس ۲ میلی لیتر محلول فسفو مولیبدیک اسید به آنها اضافه شد و پس از چند لحظه رنگ آبی پدیدار شد. شدت جذب محلول ها در طول موج ۶۰۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکترو فتومتر تعیین شد و با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز غلظت قند های احیا کننده محاسبه شد. مقدار قند های احیا کننده بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر محاسبه و گزارش شدند.

سنجش اسیدآمینه پرولین: برای اندازه گیری پرولین از روش Bates و همکاران (۹) استفاده شد. ۰/۰۲ گرم از بافت فریز شده گیاه (ساقه و برگ) در ۱۰ میلی لیتر محلول ۳ درصد سولفوسالیسیلیک اسید سائیده و عصاره حاصل به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. سپس ۲ میلی لیتر از مایع رویی را با ۲ میلی لیتر معرف نین هیدرین و ۲ میلی لیتر استیک اسید خالص مخلوط کرده و یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد در حمام آب گرم قرار گرفت. سپس بلافاصله لوله های محتوی مخلوط در حمام یخ، سرد شدند. سپس ۴ میلی لیتر تولوئن به مخلوط اضافه شد و لوله ها به خوبی تکان داده شدند. با ثابت نگه داشتن لوله ها به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه دو لایه مجزا تشکیل شد. میزان جذب لایه ی رنگی فوقانی که حاوی تولوئن و پرولین بود در ۵۱۸ نانومتر تعیین شد و برای محاسبه مقدار پرولین از منحنی استاندارد پرولین استفاده شد و نتایج بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد.

اندازه‌گیری آمینواسیدهای آزاد (FAA) در اندام هوایی : با استفاده از روش Hwang و Ederer (۱۹) میزان آمینواسیدهای آزاد به روش رنگ سنجی و با استفاده از معرف نین هیدرین مربوطه اندازه گیری شد. ابتدا بافت تازه گیاهی در بافر پتاسیم فسفات سرد ۵۰ میلی مولار(۶/۸= pH) سائیده شد. سپس مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. از محلول رویی برای سنجش میزان آمینواسیدهای آزاد استفاده شد. جذب نمونه ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در ۵۷۰ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه مقدار آمینواسیدهای آزاد از منحنی استاندارد گلیسین استفاده شد.

سنجش پروتئین کل در اندام هوایی: جهت سنجش مقدار پروتئین کل از روش Bradford (۱۱) استفاده شد. برای این

منظور، ابتدا پروتئین ها از اندام هوایی گیاه در بافر استخراج با دمای بین ۰ تا ۴ درجه سانتی گراد در آب یخ استخراج شدند. برای این منظور بافت فریز شده گیاهی در یک هاون چینی حاوی بافر فسفات ۵۰ میلی مولار با pH = ۷/۵ که دارای اتیلن دی آمین ترا استیک اسید (EDTA) ۱ میلی مولار، فنیل متان سولفونیل فلورید (PMSF) ۱ میلی مولار و پلی وینیل پیرولیدین (PVP) ۱٪ بود، سائیده شد. عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در سانتریفیوژ یخچال دار در ۱۴۰۰۰ دور و دمای ۴ درجه سانتی گراد قرار گرفت. از محلول رویی برای سنجش پروتئین کل نمونه های مورد مطالعه استفاده شد. به این منظور به لوله های آزمایش مقدار ۰/۱ میلی لیتر عصاره پروتئینی، ۵ میلی لیتر معرف بیوره افزوده و سریعا ورتکس شد. پس از دو دقیقه و قبل از یک ساعت جذب محلول ها با دستگاه اسپکترو فتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد و غلظت پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد آلبومین محاسبه و بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد.

تجمع پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در اندام هوایی: سنجش میزان تجمع پراکسید هیدروژن با استفاده از روش Velikova و همکاران (۴۱) به صورت رنگ‌سنجی انجام پذیرفت. بافت‌های اندام هوایی گیاه در حمام یخ با تری-کلرواستیک اسید سائیده شدند و عصاره با استفاده از یک سانتریفوژ یخچال‌دار (Centrifuge 5804R, Germany ساخت شرکت Eppendorf) در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه برای مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی به ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی مولار (pH =۷) و یک میلی‌لیتر یدید پتاسیم یک مولار اضافه شد و جذب محلول‌ها در طول موج ۳۹۰ نانومتر خوانده شد. مقدار پراکسید هیدروژن در هر نمونه با استفاده از ضریب خاموش $0/28\ M^{-1}cm^{-1}$ محاسبه شد و بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر گزارش شد.

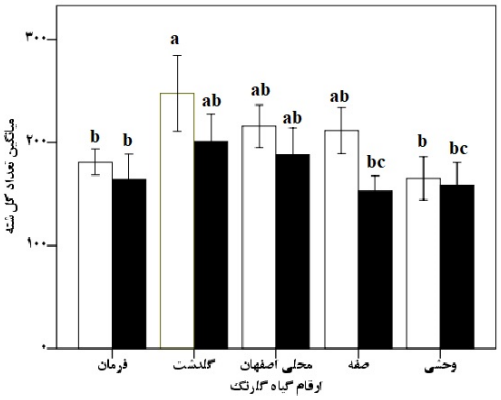
تجزیه و تحلیل آماری: این آزمایش در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با ۱۰ تکرار انجام گرفت. تحلیل آماری داده‌های بدست آمده پارامترهای مختلف در این پژوهش، با نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۲ انجام شد. قبل از تجزیه داده‌ها نرمال بودن آن‌ها مورد آزمون قرار گرفت. مقایسه کلی میانگین ها هم با استفاده از روش آنالیز واریانس (ANOVA) صورت گرفت. مقایسه دقیق و جفتی میانگین‌های بین گروهی فاکتورهای آزمایش با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال پنج درصد انجام پذیرفت.

نتایج

بررسی میزان القای مقاومت در ارقام مختلف گیاه گلرنگ و گلرنگ وحشی در اثر تغذیه لارو کرم قوزه پنبه: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین تیمار بدون آلودگی قبلی و تیمار از قبل آلوده به لارو که تحت تغذیه لارو کرم قوزه پنبه قرار گرفتند از نظر تعداد کل شته تفاوت معنی داری وجود داشته است. در بلوک و اثر متقابل رقم و تیمار القای مقاومت نسبت به این شاخص اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱). با مقایسه تعداد کل شته روی ارقام مختلف گیاه گلرنگ مشخص شد که بیشترین پاسخ متعلق به رقم محلی اصفهان و گلرنگ وحشی به دست آمد (شکل ۱).

جدول ۱- جدول تجزیه واریانس میانگین تعداد کل شته گلرنگ روی ارقام مختلف گلرنگ و گلرنگ وحشی تحت تنش زیستی تغذیه لارو کرم قوزه پنبه

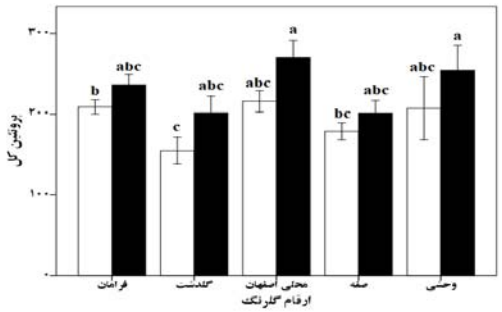
متغیر	منابع تغییرات	درجه آزادی	F	P
	بلوک	۱	۲۰/۳۱۹	۰/۵۷۲
تعداد کل شته	تیمارالقای مقاومت	۱	۲۰/۹۹۳	۰/۰۰۰
	رقم ها	۴	۱۰/۷۳۷	۰/۰۳۰
	تیمارالقای مقاومت × رقم ها	۴	۱/۱۹۲	۰/۸۷۹



شکل ۱- تاثیر پیش تغذیه لارو کرم قوزه پنبه بر میانگین تعداد کل شته گلرنگ روی ارقام مختلف گیاه گلرنگ و گلرنگ وحشی

(ستون‌های سفید میانگین گیاهان شاهد و ستون‌های سیاه میانگین گیاهان القاشده می‌باشد.)

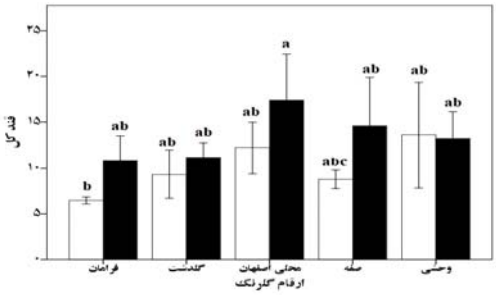
پروتئین کل: تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که پیش‌آلوده سازی با لارو تاثیر معنی‌داری بر میانگین میزان پروتئین کل گیاه داشته است این اختلاف در ارقام مختلف نیز مشاهده شد به طوری که افزایش تجمع پروتئین کل در ارقام گلدشت و محلی اصفهان در مقایسه با شاهد تفاوت معنی داری داشت اما در سه رقم دیگر تفاوت معنی دار نبود (شکل ۲).



شکل ۲- تاثیر پیش تغذیه لارو کرم قوزه پنبه بر میانگین پروتئین کل قبل و بعد از آلودگی در ارقام مختلف گلرنگ

(ستون‌های سفید میانگین گیاهان شاهد و ستون‌های سیاه میانگین گیاهان القاشده می‌باشد.)

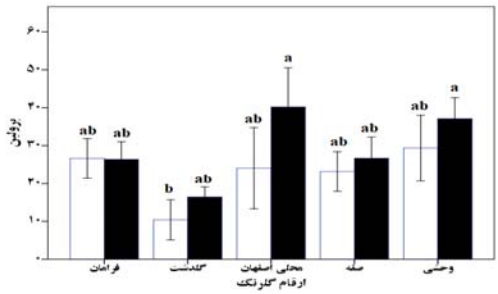
قندهای احیا کننده: نتایج بیانگر اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای القا شده و شاهد در میانگین میزان تجمع قندهای احیاکننده گیاه بود (شکل۳). داده های حاصل از این پارامتر نشان می دهد که هر چهار رقم تیمار شده با تغذیه لارو کرم قوزه نسبت به رقم وحشی در همین شرایط افزایش معنی داری در قندهای احیاکننده اندام هوایی خود نشان داده اند. بنابراین قندهای مذکور در ساقه این گیاهان تجمع یافته که بیانگر تاثیر تیمار زیستی می باشد (شکل۳).



شکل ۳- تاثیر پیش تغذیه لارو کرم قوزه پنبه بر میانگین قند کل قبل و بعد از آلودگی در ارقام مختلف گلرنگ

(ستون‌های سفید میانگین گیاهان شاهد و ستون‌های سیاه میانگین گیاهان القاشده می‌باشد.)

پرولین: نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به میزان پرولین تولید شده حاکی از وجود اختلاف معنی دار میزان پرولین بین گیاهان پیش‌آلوده سازی شده با لارو با گیاهان شاهد بود. به استثنای رقم فرامان در سایر ارقام افزایش پرولین در گیاهان القا شده نسبت به شاهد مشاهده شد (شکل شماره ۴).

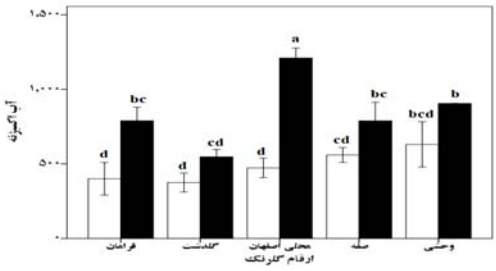


شکل ۴- تاثیر پیش تغذیه لارو کرم قوزه پنبه بر میانگین پرولین قبل و بعد از آلودگی در ارقام مختلف گلرنگ

(ستون‌های سفید میانگین گیاهان شاهد و ستون‌های سیاه میانگین گیاهان القاشده می‌باشد.)

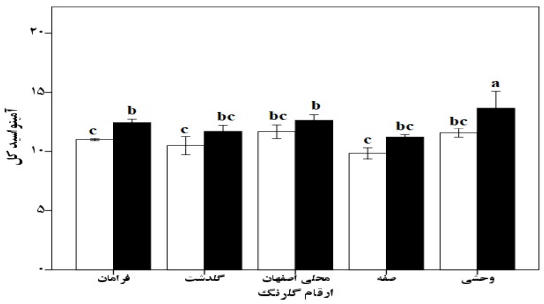
آب اکسیژنه (H_2O_2): نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که پیش‌تیمار ارقام مختلف گلرنگ با لارو تاثیر معنی-داری بر میانگین مقدار تجمع یافته H_2O_2 داشته است.

اختلاف معنی‌دار میانگین H_2O_2 بین تیمار القا شده و گیاهان شاهد مشاهده شد. افزایش تولید این پارامتر در همه ارقام القا شده نسبت به گیاهان شاهد مشاهده شد و میزان افزایش روی گیاهان القا شده رقم محلی اصفهان چندین برابر شاهد در این رقم بود (شکل ۵).



شکل ۵- تاثیر پیش تغذیه لارو کرم قوزه پنبه بر میانگین آب اکسیژنه (H_2O_2) قبل و بعد از آلودگی در ارقام مختلف گلرنگ
(ستون‌های سفید میانگین گیاهان شاهد و ستون‌های سیاه میانگین گیاهان القاشده می‌باشد.)

آمینواسیدهای آزاد: با مقایسه میانگین‌های داده های مربوط به آمینواسید های آزاد مشخص شد که تفاوت بین گیاهان تیمار با شاهد معنی دار بود (شکل ۶). در همه ارقام القا شده میزان آمینواسیدهای کل نسبت به گیاهان شاهد افزایش نشان داد (شکل ۶).



شکل ۶- تاثیر پیش تغذیه لارو کرم قوزه پنبه بر میانگین آمینو اسید کل قبل و بعد از آلودگی در ارقام مختلف گلرنگ (ستون‌های سفید میانگین گیاهان شاهد و ستون‌های سیاه میانگین گیاهان القاشده می‌باشد.)

بحث و نتیجه گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد آلودگی قبلی پیش‌تغذیه لارو کرم قوزه پنبه باعث کاهش تعداد کل شته روی گیاهان در مرحله آلودگی پس از مرحله حذف و استراحت شده است. مقایسه میانگین‌های انجام شده نشان داد که علاوه بر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمار القای مقاومت، اختلاف معنی داری هم بین ارقام مورد استفاده وجود داشت. این نتایج بیانگر آن است که عامل القاگر (لارو) توانسته با اثر روی فیزیولوژی گیاهان میزبان سبب کاهش کیفیت غذایی شیره نباتی شده و در نتیجه میانگین تعداد کل شته روی گیاهان از قبل آلوده به طور معنی‌داری کمتر از تعداد کل شته روی گیاهان شاهد که از قبل آلوده نبودند شده است. همچنین دلیل دیگر این موضوع به تفاوت‌های ریخت-شناسی و ژنتیکی هر یک از ارقام مختلف گلرنگ مورد آزمایش بوده است که سبب شده لارو به طور متفاوتی روی آن گیاه تاثیر بگذارد. تفاوت میانگین تعداد کل شته روی ارقام مختلف گلرنگ از قبل آلوده نشان‌دهنده عکس-العمل متفاوت این ارقام به اثرات عامل القاکننده بوده است و در نتیجه شته‌های مستقر بسته به کیفیت شیره نباتی هر یک از ارقام مورد آزمایش میزان جمعیت خود را تنظیم نمود. عامل القا کننده در اثر تغذیه و آسیبی که به گیاهان میزبان وارد می‌کندمی‌تواند تغییراتی روی میزان ترکیبات گیاهی پس از القا داشته باشد. به طور نمونه آسیب وارده روی گیاه باعث افزایش غلظت ترکیبات فنلی شد. در پژوهش حاضر کاهش تعداد کل شته در گیاهان القا شده نسبت به شاهد در رقم‌های محلی اصفهان و صفه کاهش معنی داری نسبت به گیاهان شاهد داشت که بیانگر القای بیشتر مقاومت در این دو رقم نسبت به سایر ارقام تجاری و گلرنگ وحشی بوده است. در تحقیق حاضر نیز مشخص شد که تغذیه لارو به عنوان عامل زنده القاکننده مقاومت باعث افزایش تولید و غلظت مواد و ترکیبات دفاعی در ارقام گلرنگ شده است. ترکیبات مختلف از جمله میزان ترکیبات فنلی، قندهای احیا کننده، پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، اسیدهای آمینه و میزان پروتئین کل گیاهان میزبان در این رابطه تغییر یافته است. به طور معمول گیاهان زمانی که تحت تنش‌های زنده (حشرات و عوامل

بیماریزای گیاهی) و یا غیرزنده (شوری، خشکی و غیره) قرار می‌گیرند، میزان ترکیبات دفاعی عمومی مانند ترکیبات فنلی و پراکسید هیدروژن افزایش می‌یابد (۱، ۵، ۳۹، ۱۷، ۲۳ و ۴۱). تغذیه شته ها نیز که با ترشح بزاق در آوندهای آبکش همراه است نیز سبب ایجاد تنش در گیاه شده و در نتیجه مسیرهای متابولیکی تولید ترکیبات دفاعی متداول مانند فنل، سالیسیلیک اسید و نیز H_2O_2 فعال می شوند (۴۵). همان‌گونه که در نتایج این مطالعه مشخص شد عامل القا کننده مقاومت سبب افزایش معنی‌دار ترکیبات مختلف دفاعی در ارقام محلی اصفهان و صفه (پروتئین، فنل، قندها و پراکسید هیدروژن) شد. در دو رقم محلی اصفهان و صفه تعداد کل شته نیز در گیاهان پیش تیمار شده (القاشده) به طور معنی‌داری نسبت به شاهد کاهش نشان داد که این نتایج نشان‌دهنده تاثیر معنی‌دار عامل القا کننده در ایجاد مقاومت القایی در این دو رقم بوده است. مطالعه‌هایی در زمینه مباحث القای مقاومت القایی در گیاهان به‌وسیله عوامل القا کننده زنده و غیرزنده مختلف انجام شده است. به طور نمونه مطالعه انجام گرفته روی گیاه تربچه و رفتار گیاه‌خواری لاروهای، *Trichoplusia ni* (Hubner) روی کلم نشان داده است که دفاع شیمیایی القایی در گیاه تربچه باعث کاهش قابل توجهی در نرخ رشد جمعیت این آفت می‌شود، به طوری‌که مقاومت القایی ایجاد شده در گیاه باعث کاهش نرخ بقاء در مرحله نابالغ حشره، به تاخیر افتادن نشو ونما، کاهش تخم‌گذاری و همچنین توقف رشد جمعیت می‌شود (۳۳). با بررسی انجام شده روی مقاومت القایی در اثر تغذیه لاروهای *H. zea*، روی گیاهان کلزا مشخص شد که مقاومت القایی ایجاد شده باعث افزایش مقاومت گوجه فرنگی نسبت به مینوز برگ پنبه، Burges *Liriomyza trifolii*، نیز می‌شود(۳۵). این ترکیبات شیمیایی ایجاد شده با کاهش ارزش مواد مغذی در برگ گیاهان گوجه فرنگی موجب عدم رغبت لاروهای کرم برگخوار چغندر *Spodoptera exigua* Huebner به تغذیه از این گیاه می‌شود (۳۶). همچنین در مطالعه‌ای دیگر گزارش شد که آلودگی‌های پیشین گیاهان پنبه به شته سبز جالیز *Aphis gossypii* موجب کاهش رشد جمعیت بعدی این شته می‌شود (۴۴). در مطالعه دیگری استقرار و تولیدمثل شته‌ی سبز هلو را روی دو رقم هلو بررسی و نشان دادند که رقم حساس هلو که مقاومت در آن از طریق آلوده‌سازی پیشین القا شده است در مقایسه با گیاهان شاهد آن رقم به سهولت مورد تغذیه شته سبز هلو قرار نمی‌گیرند (۳۰). در بررسی کاهش رشد جمعیت کنه تارتن، *T. urticae* و شته‌ها در گیاهان گوجه فرنگی خسارت دیده توسط این آفات مشخص شد که مقاومت القایی یکی از مهمترین اجزای مقاومت در گیاهان گوجه فرنگی می‌باشد. (۳۷). همچنین در اثر پیش آلوده سازی گیاه گوجه فرنگی به شته *Macrosiphum euphorbiae* Thomas در گیاه میزبان مقاومت القایی ایجاد می‌شود که دلیل این موضوع بیان ژن‌های مقاومت در گیاه می‌باشد (۱۳). در مطالعه‌ی دیگر، القای مقاومت در گوجه‌فرنگی نسبت به شته‌ی سیب‌زمینی، *Macrosiphum euphorbiae* Thomas، با استفاده از جاسمونیک اسید نشان داده شد که القای مقاومت با استفاده از جاسمونیک اسید بطور قابل توجهی طول عمر و تولید مثل شته‌های بالغ را کاهش داد (۱۳). در مطالعه‌ای دیگر مشخص شد که آلودگی پیشین گیاهان گوجه‌فرنگی با شته سیب‌زمینی، *M. euphorbiae* سبب ایجاد مقاومت القایی به صورت کاهش معنی‌دار تعداد عسلک پنبه *Bemisia tabaci* (Gennadius) در زمان قرار دادن آن‌ها روی گیاهان پیش آلوده با شته *M. euphorbiae* شده است اما برعکس گیاهان پیش‌آلوده سازی شده با *B. tabaci* سبب حساسیت بیشتر گیاه به شته (افزایش تراکم) شد (۲۷). در مطالعه‌ی امیری و همکاران گیاه گلرنگ که تحت تنش غیرزنده خشکی قرار داده شده است، مصرف سالیسیلیک اسید و کیتوزان سبب افزایش مقاومت القایی گیاه به این تنش شده است. به طوری که محلول‌پاشی گیاه گلرنگ تحت تنش خشکی با مواد فوق‌الذکر سبب افزایش شاخص‌های رشدی و میزان پروتین و قندهای محلول شد

(۱). در مطالعه‌ای دیگر استفاده از سالیسیلیک اسید و پنکونازول روی گیاهان گلرنگ که تحت تنش شوری قرا داده شده بودند، القای مقاومت به شوری با افزایش شاخص‌های رشدی و میزان قند کل و رنگدانه‌های گیاه به اثبات رسید (۵). از آنجاکه افزایش تولید اسید آمینه پرولین در مواردی که به دیواره سلولی آسیب وارد شود مشاهده می‌شود، در این تحقیق نیز با توجه به شکل تغذیه لارو کرم قوزه پنبه، افزایش معنی‌داری در تولید اسیدآمینه پرولین در گیاهان القا شده نسبت به گیاهان شاهد مشاهده شد.

نتیجه گیری کلی: نتایج نشان داد که به‌طور کلی تغذیه عامل القاکننده، پیش‌تغذیه لارو کرم قوزه پنبه، درگیاه گلرنگ تاثیر معنی داری بر شاخص‌های فیزیولوژیک گیاه و تولیدمثل شته گلرنگ داشته است. شاخص هایی مانند پراکسید هیدروژن، پرولین، اسیدآمینه کل، میزان پروتئین و قندهای احیا کننده به خوبی تحت تاثیر تنش زیستی در مقایسه با شرایط شاهد قرار گرفتند. این تغییرات نشان می دهد که پاسخ ارقام مختلف گلرنگ یکسان نبوده و ارقامی مانند محلی اصفهان سازگاری القایی بهتری در جهت مقاومت القایی و تجمع متابولیت‌های مهم مانند آب اکسیژنه، پرولین، قند و پروتئین از خود نشان داد. پیشنهاد می شود ارزیابی سایر شاخص‌های آنزیمی و هورمون‌های گیاهی نیز جهت تکمیل مطالعه حاضر انجام شود.

سپاسگزاری: این مقاله مربوط به مطالعات انجام شده طرح پژوهشی به قرارداد شماره ۷/۲۶۰۸/ص/۹۵ می‌باشد که در پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان به ثبت رسیده است. نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از مسئولین پژوهشگاه و دانشگاه اعلام می دارند.

منابع

۱- امیری، ا، ع. سیروس مهر و ص. اسمعیل‌زاده بهابادی. ۱۳۹۴. اثر محلول‌پاشی اسید سلیسیلیک و کیتوزان بر عملکرد گیاه گلرنگ در شرایط تنش خشکی. مجله پژوهشهای گیاهی (مجله زیست شناسی ایران). جلد ۲۸. شماره ۴. صفحات ۷۲۵-۷۱۲.

۲- خانجانی، م. ۱۳۸۷. آفات گیاهان زراعی ایران. چاپ چهارم. انتشارات دانشگاه بو علی سینا. همدان. ۷۱۸ صفحه.

۳- رضوانی، ع. ۱۳۸۰. کلید شناسایی شته‌های ایران. انتشارات سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، وزارت جهاد کشاورزی. ۳۰۵ صفحه.

۴- زینلی، ا. ۱۳۷۸. گلرنگ (شناخت، تولید و مصرف). چاپ اول. انتشارات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

۵- شکی، ف، ح. ابراهیم‌زاده معبود و و. نیکنام. ۱۳۹۷. بررسی اثر برهمکنش سالیسیلیک اسید و پنکونازول بر پاسخ های فیزیولوژیکی و بیوشیمیائی گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.)تحت تنش شوری. مجله پژوهشهای گیاهی (مجله زیست شناسی ایران). جلد ۳۱. شماره ۲. صفحات ۴۸۱-۴۶۹.

6- Agrawal, A.A., Tuzun, S. and Bent, E. 1999. Induced plant defenses against pathogenes and herbivores. *Biochem. Ecol. Agricul.* APS Press, St. Paul. 390pp.

7- Agrawal, A.A., Sherriffs, M.F., 2001. Induced plant resistance and susceptibility to late-season herbivores of wild radish. Annals of the Entomological Society of America. 94: 71-75

8- Baldwin, I.T. 1994. Chemical changes rapidly induced by herbivory. In: Bernays E. A (ed) Insect-plant interactions, vol. 5. CRC, Boca Raton, 1-23 pp.

9- Bates, L., Waldren, R. P. and Teare, I. D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil 39: 205-207.

10- Bi, J.L., Murphy, B., Felton, G.W. 1997. Does salicylic acid act as a signal in cotton for induced resistance to *Helicoverpa zea*?. Journal of Chemical Ecology. 23 :1805-1818.

11- Bradfor, M. M. 1976. Rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilising principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72:248-254.

12- Bruinsma M, Dicke M. 2008. Herbivore-induced indirect defense: from induction mechanisms to community ecology. In: Schller A (ed) Induced plant resistance to herbivory. Springer Verlag, Berlin, 31-60 pp.

13- Cooper, W.R., Goggin, F.L., 2005. Effects of jasmonate- induced defenses in tomato on the potato aphid, *Macrosiphum euphorbiae.* Entomologia Experimentalis et Applicata. 115: 107- 115.

14- De Vos, M., Van Oosten, V.R., Poecke, R.M.P., Van Pelt, J.A., Pozo, M.j., Mueller, M.J., Buchala, A.J., Metraux, J.P., Van Loon, L.C., Dicke, M., Pieterse, C.M.J. 2005. Signal signature and transcription changes of arabidopsis during pathogen and insect attack. Molecular Plant-Microbe Interactions. 18: 923-937.

15- Dordas, C.A. and Sioulas, C. 2009. Dry matter and nitrogen accumulation, partitioning, and retranslocation in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) as affected by nitrogen fertilization. Field Crops Research. 110: 35-43.

16- Farmer, E.E., Ryan, C.A. 1992. Octadecanoid precursors of jasmonic acid activate the synthesis of wound-inducible proteinase inhibitors. Plant Cell. 4: 129-134.

17- Fürstenberg-Hägg, J., Zagrobelny, M. and Bak , S. 2013. Plant Defense against Insect Herbivores. International Journal of Molecular Sciences. 14, 10242-10297.

18- Hodge, S., Pope, T.W., Holaschke, M. and Powell, G. 2006. The effect of ß- aminobutyric acid on the growth of herbivorous insects feeding on Brassicaceae. Annals of Applied Biology. 148: 223-229.

19- Hwang, M., Ederer, G. M. 1975. Rapid hippurate hydrolysis method for presumptive identification of group B streptococci. Journal of Clinical Microbiology. 1:114-117.

20- Kaloshian, I., Kinsey, M. G., Williamson, V. M. & Ullman, D. E. 2000. Mi-mediated resistance against the potato aphid, *Macrosiphum euphorbiae* (Hemiptera: Aphididae), limits sieve element ingestion. Environmental Entomology, 29, 690– 695.

21- Karban, R., Baldwin, I.T. 1997. Induced resistance to herbivory. Chicago University Press, Chicago. IL. 330 pp.

22- Kogan, M., Paxton, J. 1983. Natural inducers of plant resistance to insects. In: Hedin P. A. (ed) Plant resistance to insects. American Chemical Society Symposium. American Chemical Society, Washington, DC. Series, 208: 153-171.

23- Kulbat, K. 2016. The role of phenolic compounds in plant resistance. Biotechnology and Food Sciences. 80 (2), 97-108.

24- Łukasik, I., Goławska, S., Wójcicka. A. 2012. Effect of cereal aphid infestation on ascorbate content and ascorbate peroxidase activity in Triticale. Polish Journal of Environmental Studies. 21: 1937-1941.

25- Mayer, R. T., Inbar, M., McKenzie, C. L., Shatters, R. & Borowicz, V. 2002. Multitrophic interactions of the silverleaf whitefly, host plants, competing herbivores, and phytopathogens. Archives of Insect Biochemistry and Physiology. 51, 151– 169.

26- Moran, P.J., Thompson, G.A. 2001. Molecular responses of aphid feeding in *Arabidopsis* in relation to plant defense pathways. Plant Physiology. 125: 1074-1085.

27- Nombela1y, G., Garzo1y, E., Duque, M. and Muniz, M. 2009. Preinfestations of tomato plants by whiteflies (*Bemisia tabaci*) or aphids (*Macrosiphum euphorbiae*) induce variable resistance or susceptibility response. Bulletin of Entomological Research, 99: 183–191.

28- Omer, A.D., Thaler, J.S., Granett, J., Karban, R. 2000. Jasmonic acid induced resistance in grapevines to a root and leaf feeder. Journal of Economic Entomology. 93: 840–845.

29- Ryan, C.A. 1990. Protease inhibitors in plants: genes for improving defenses against insects and pathogens. Annual Review of *Phytopathology*. 28: 425–449.

30- Sauge, M.H., Lacroze, J.P., Poessel, J.L., Pascal, T., Kervella, J. 2002. Induced resistance by *Myzus persicae* in the peach cultivar ' Rubira'. Entomologia Experimentalis et Applicata. 102: 29-37.

31- Schmeltz, E.A., Alborn, H.T., Banchio, E., Tumlinson, J.H. 2003. Quantitaive relationships between induced jasmonic acid levels and volatile emission in *Zea mays* durhng *Spodoptera exigua* herbivory. Planta. 216: 665-673.

32- Senthil-Nathan, S., Kalaivani, K., Choi, M.Y., Paik, C.H. 2009. Effects of jasmonic acid-induced resistance in rice on the plant brownhopper, *Nilaparvata lugens* Stal (Homoptera: Delphacidae). *Pesticide Biochemistry* and *Physiology*. 95: 77-84.

33- Shelton, A.L. 2004. Variation in chemical defences of plants may improve the effectiveness of defence. Evolutionary Ecology *Research.* 6: 706-26.

34- Somogy M. 1952. Notes on sugar determination. Journal Biological Chemistry. 195: 19-23.

35- Sonald SF, Laima SK. Phenolics and cold tolerance of *Brassica napus*. Plant Agriculture. 1999; 1: 1 - 5.

36- Stout, M.J., Workman, K.V., Duffey, S.S. 1996a. Identity, spatial distribution and variability of induced chemical responses in tomato plants. Entomologia Experimentalis et Applicata. 79: 255-271.

37- Stout, M.J., Duffey, S.S. 1996b. Characterization of induced resistance in tomato plants. Entomologia Experimentalis et Applicata. 79: 273-283.

38- Takabayashi, J., Dicke, M. 1996 .Plant-carnivore mutualism through herbivore-induced carnivore attractants. Trends in Plant Scince. 1: 109-113.

39- Thompson, G. A. & Goggin, F. L. 2006. Transcriptomics and functional genomics of plant defense induction by phloem-feeding insects. Journal of Experimental Botany. 57: 755– 766.

40- Vancanneyt G, Sanz C, Farmaki T, Paneque M, Ortego F, and Castanera P, Sanchez- Serrano J J. 2001. Hydroperoxidelyase depletion in transgenic potato plant leads to an increase in aphid performance. PNAS. 98: 8139-8144.

41- Velikova, V., Yordanov, I. and Edreva, A. 2000. Oxidative Stress and Some Antioxidant Systems in Acid RainTreated Bean Plants: Protective Role of Exogenous Polyamines. Plant Science. 151: 59-66.

42- Walling L. L. 2000. The myriad plant response to herbivores. Journal of Plant Growth Regulation. 19: 195-216.

43- Weiss, E.A. 2000. Oilseed crops (2^{nd} edn). Blackwell Science, Oxford. 364 pp.

44- Wool, D. and Hales, D. F. 1996. Previous infestation affects recolonization of cotton by *Aphis gossypii*: induced resistance or plant damage. Phytoparasitica. 24: 39- 48.

45- Züst, T. and Agrawal, A. A. 2016. Mechanisms and evolution of plant resistance to aphids. Nature plants, 2: 1-9.

Evaluation of physiological indices of induced changes in safflower cultivars under biotic stress

Mansouri S.M.,[1] Mehrparvar M.,[1] Amiri Domari M.[1] and Mozafari H.[2]

[1] Dept. of Biodiversity, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, I.R. of Iran.

[2] Dept. of Ecology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, I.R. of Iran.

Abstract

Plants have a variety of defense mechanisms, which are often induced after herbivores attacks. Induced defense mechanism has advantages for plants by reducing the performance or preference of herbivores toward host plants such as aphids, which later attack the plant. In current research, in first stage, four safflower cultivars including, Sofeh, Goldasht, Faraman, Mahali-Isfahan and a wild safflower species, *Carthamus oxyacantha*, were exanimate feeding of *Helicoverpa armigera* (Lep.: Noctuidae) larvae. Then all larvae were removed and these plants were maintained uninfected for 72 h. In second stage, four unwinged adult of safflower aphid, *Uroleucon carthami* (Hem.: Aphididae) were placed on both infested and control plants. Then they were reared for 15 days. The results showed that cotton bollworm larval feeding on safflower, as an induced resistance element, had a significant on plant physiological indices and aphid reproduction. Indicators such as H_2O_2, prolin, protein content and reducing sugars were significantly affected by the biotic stress of the larva compared to the control. These changes indicate that the responses of different safflower varieties to larvae was not the same and cultivars like Mahali-Isfahan showed better compatibility for induced resistance and accumulation of important metabolites such as oxygenated water, prolin, sugar and protein.

Key words: H_2O_2, safflower aphid, cotton bollworm larva, plants defense