جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله علوم کشاورزی ایران
جلد ۳۶، شماره ۶، سال ۱۳۸۴

مقاومت آنتی‌بیوزی شش رقم لوبیا به مگس مینوز *Liriomyza sativae* (Dip.: Agromyzidae) در اتاقک رشد

بابک ظهیری[۱]، سعید محرمی‌پور[۲]، علی اصغر طالبی[۳] و یعقوب فتحی‌پور[۴]
۱، ۲، ۳، ٤، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و دانشیاران دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس
تاریخ پذیرش مقاله ۸۳/۱۱/۲۱

خلاصه

یکی از مهمترین آفات برگی لوبیا مگس مینوز Liriomyza sativae Blanchard می‌باشد. لاروها با ایجاد تونل‌های خطی مارپیچ خسارت اصلی را ایجاد می‌نماید که در تراکم بالا می تواند منجر به ضعف شدید یا نابودی گیاه شود. از آنجاییکه ارقام مقاوم به عنوان یکی از تکنیک‌های کارآمد در مدیریت تلفیقی این آفت محسوب می‌شوند، مقاومت آنتی‌بیوزی ٦ رقم لوبیا به مگس مینوز L. sativae با اندازه‌گیری برخی از شاخص‌های زیستی حشره شامل تعداد سوراخ تغذیه‌ای-تخمگذاری، تعداد تونل‌های لاروی، طول دوره جنینی، طول دوره‌ی لاروی، تعداد شفیره، طول دوره‌ی شفیرگی، درصد مرگ و میر لاروی و شفیرگی، وزن شفیره و نسبت جنسی بالغین مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش‌ها در اتاقک رشد و تحت شرایط کنترل شده با دمای ۱± ۲۵ درجه‌ی سانتیگراد، رطوبت نسبی ۵±۵۵ درصد و دوره‌ی نوری ١٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انجام شد. نتایج به دست آمده اختلاف معنی‌داری را در صفات اندازه‌گیری شده در مرحله‌ی لاروی شامل درصد مرگ و میر و طول دوره‌ی لاروی نشان دادند اما تفاوت معنی‌داری از نظر سایر صفات بین ارقام مشاهده نشد. در این مطالعه ارقام پرستو و تلاش به عنوان مقاوم‌ترین ارقام مورد آزمایش شناخته شدند و درصد مرگ و میر لاروی در این ارقام به‌ترتیب ۱۰/۲۲±۳٦/٦۷ و ۵/۲۹±۳۰/٦۷ مشاهده گردید. می‌توان از این ارقام در برنامه‌های مدیریتی آفات لوبیا بهره گرفت.

واژه‌های کلیدی: Liriomyza sativae، لوبیا، مقاومت آنتی‌بیوزی، شاخص‌های زیستی

مقدمه

یکی از مهمترین آفات برگی لوبیا مگس مینوز *Liriomyza sativae* Blanchard می‌باشد که در طی ۳۰ سال اخیر توانسته است از طریق تجارت جهانی و انتقال مواد گیاهی آلوده دامنه‌ی انتشارش را از کانون‌های بومی خود در ایالت فلوریدا (در ناحیه‌ی نئارکتیک) به اکثر نقاط جهان در سه قاره‌ی اروپا، آفریقا و آسیا گسترش دهد(۱۵). این حشره برای اولین بار در سال ۱۳۷۹ از ایران گزارش شد و به عنوان یکی از آفات مهم مزارع گوجه‌فرنگی، خیار، ماش و لوبیا چشم بلبلی پاییزه در استان خوزستان معرفی گردید (۳). این حشره‌ی پلی‌فاژ به عنوان آفت بسیاری از محصولات کشاورزی و گیاهان زینتی در مناطق بومی و مورد تهاجم شناخته می‌شود (۸).

فعالیت لاروهای این حشره روی برگ‌ها که با ایجاد تونل‌های خطی مارپیچ و نامنظم همراه است، خسارت اصلی را ایجاد می‌نماید (۲۴). تغذیه‌ی لاروها در تراکم بالا می تواند با کاستن از توانایی فتوسنتز گیاه منجر به ضعف شدید یا نابودی گیاه شود، بطوریکه به نظر می‌رسد گیاه در مجاورت آتش سوخته است (۲۴). حشرات ماده نیز با تخمریز اره‌ای خود سوراخ‌های ریزی را در اپیدرم رویی برگ‌ها ایجاد می‌نمایند تا از شیره‌ی خارج شده تغذیه نموده و در آن تخم‌ریزی کنند. این

مکاتبه کننده: سعید محرمی‌پور
E-mail: moharami@modares.ac.ir

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

سوراخها منظره‌ی نقطه نقطه و متمایل به زردی را به برگها می‌دهد (۷). حساس شدن برگ‌های آلوده به باد، کاهش رطوبت گیاه، ریزش زودهنگام برگ ها و در نتیجه سوختگی میوه توسط نور آفتاب، کاهش بازار پسندی بخشهای قابل برداشت و بالا رفتن احتمال آلودگی توسط بیمارگرها از جمله تنش‌های ثانوی ناشی از خسارت این آفت می‌باشند. لاروها می‌توانند حتی بعد از برداشت محصول نیز به خسارت خود ادامه دهند (۲۴).

مدیریت مینوزهای خانواده‌ی Agromyzidae در طی ۳۰ سال اخیر موضوع تحقیقات وسیع و مباحثات علمی فراوانی بوده است. استفاده‌ی بی‌رویه از حشره‌کش‌ها (۱۲) باعث از بین رفتن دشمنان طبیعی و ایجاد مقاومت در جمعیت این مگس‌ها شد (۲۱). ویژگی‌های خاص این حشرات معمولاً کنترل شیمیایی آنها را مشکل و پیچیده کرده است که از آن جمله می‌توان به باروری بالا، رشد و نمو سریع، کوچکی و تحرک زیاد حشرات بالغ، دوره‌ی نسبتاً طولانی شفیرگی در خاک و محافظت مراحل تخم و لارو توسط بافت برگ اشاره نمود. بعلاوه دالان ایجاد شده توسط لارو تا زمانی که برگ زنده است باقی می‌ماند و از اینرو کاربرد حشره‌کشها در محافظت از زیبائی محصولات زینتی و یا جلوگیری از کاهش عملکرد اقتصادی در صیفی‌جات کارائی کمی دارد (۲۱).

سیستم‌های کشت لوبیا و شیوه‌های کنترل آفات آن بسیار متغیر است. محصولی مانند لوبیا معمولاً توسط زارعین خرده پا که استطاعت تهیه‌ی مواد شیمیایی گران قیمت را ندارند کشت می‌شود. اگرچه معدودی از زارعین لوبیا از روش‌های شیمیایی استفاده می‌کنند، اما کاربرد حشره‌کش‌ها نیز به دلایل فوق تاکنون نتوانسته است پاسخگوی کشاورزان در زمینه‌ی کاهش تولید ناشی از این آفت باشد. همچنین فصل رشد کوتاه لوبیا و دوره‌های مکرّر آیش، تأثیر عوامل بیولوژیک را کاهش می‌دهند (۱). برای چنین محصولی مقاومت گیاه میزبان ممکن است یک روش اقتصادی و پایا جهت غلبه بر حمله‌ی آفت باشد. بطور کلی مفیدترین تکنیک مبارزه در IPM حبوبات استفاده از ارقام مقاوم است و هسته‌ی مرکزی آنرا تشکیل می‌دهد (۲۶).

اگر چه مدیریت تلفیقی گونه‌های *Liriomyza* در مزارع صیفی به طور گسترده‌ای مورد تحقیق قرار نگرفته است اما تحقیقات اندکی در جهت بررسی و تعیین سازوکارهای مقاومت گیاهان به مینوزهای جنس *Liriomyza* در جهان انجام شده است (۱۴) و در حال حاضر علاقه‌ی زیادی به این موضوع وجود دارد.

مطالعات بروستر و آلن (۱۹۹۱) در دانشگاه فلوریدا منجر به شبیه‌سازی مقاومت گیاه کرفس در یک مدل با سه سطح غذایی گردید و نشان داد که مقاومت گیاه میزبان و دشمنان طبیعی نقش بسیار مهمی در کنترل مینوزهای جنس Liriomyza دارند. برهم‌کنش بین Liriomyza trifolii (Burgess) و کولتیوارهای مختلف داودی با مطالعه‌ی اثرات آنتی‌زنوز تخم‌گذاری و آنتی‌بیوز لاروی توسط دیجک و همکاران (۱۹۹۳) مورد بررسی قرار گرفت و در کولتیوارهای مقاوم عدم ترجیح و کاهش تخم‌گذاری مشاهده گردید. بقای اولین و دومین سن لاروی نیز تحت تأثیر مقاومت آنتی‌بیوزی گیاه قرار گرفتند. رابطه‌ی کولتیوارهای کاهو با برخی از پارامترهای زیستی مگس مینوز Liriomyza trifolii در تیمارهای دارای غذای مکمل و بدون آن توسط ناگاتا و همکاران (۱۹۹۸) مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که اختلاف معنی‌دار در تعداد کل سوراخهای ایجاد شده روی برگ و شفیره‌های تولید شده در کولتیوارهای مختلف کاهو ناشی از تفاوت در بقای بالغین است. ارقام کرچک به همراه ارقام شاهد(حساس) جهت مقاومت به مگس L. trifolii در طی سالهای ۹۷-۱۹۹۵ در آندراپرادش هند غربال شدند. مقدار کل فنل در ژنوتیپ مقاوم ۳ تا ۴ برابر بیشتر از ژنوتیپ حساس اندازه‌گیری شد (۲۳). اصلاح مقاومت در کرفس (Apium graveolens) نسبت به L. trifolii در تحقیق ترامبل و همکاران (۲۰۰۰) به اجرا در آمد. بعضی از ژنوتیپ‌های مورد آزمایش مقاومت خوبی را به نمایش گذاشتند و علاوه بر تعداد کم سوراخ‌های تغذیه‌ای، امکان کمتری را برای بقای حشره در طول رشد و نمو فراهم نمودند. تنوع ژنتیکی بعضی از ژنوتیپ‌های گوجه فرنگی برای تأثیر روی دوره‌ی رشد و نمو، باروری و مرگ‌ومیر در Liriomyza trifolii مطالعه شد. اکثر ژنوتیپ‌های گونه‌ی Lycopersicon hirsutum کاملاً مقاوم بودند که در کاهش تولید مثل و بقای لاروی بروز نمود (۲۵).

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

کلکسیون جهانی لوبیا دارای مجموعه‌ای از ارقام با توان ژنتیکی ناشناخته است که باید با ارزیابی دقیق و همه‌جانبه به میزان این پتانسیل ژنتیکی پی برد (۱). سازوکارهای مقاومتی ژرم‌پلاسم‌ها و ارقام لوبیا نسبت به مگس‌های مینوز *Liriomyza* spp. در دنیا، برای اولین بار در این تحقیق مورد مطالعه قرار گرفته است و هدف از آن، بررسی مقاومت آنتی‌بیوزی بعضی از ارقام لوبیا به مگس مینوز *L. sativae* می‌باشد.

مواد و روش‌ها

آزمایش‌ها در اتاقک رشد با دمای ۱±۲۵ درجه‌ی سانتیگراد (۲۲)، رطوبت نسبی ۵±۵۵ درصد (۱۹) و دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انجام شد. نور مورد نیاز نیز از طریق ۳۶ عدد لامپ فلورسنت مدل OSRAM L 36 W/77 در فاصله نیم متری بوته‌ها تأمین گردید. انرژی گرمائی تولید شده توسط مجموعه‌ی ترانس‌ها و لامپ‌های فلورسنت با استفاده از یک کولر گازی مدل Ogeneral به خارج از اتاقک رشد منتقل شده و دما در طول انجام آزمایش در حدّ مطلوب حفظ گردید. رطوبت مورد نیاز با استفاده از یک دستگاه رطوبت‌ساز مدل کروک درحد مورد نظر تأمین گردید.

جهت ایجاد یک جمعیت آزمایشگاهی از مگس مینوز *L. sativae*، نمونه‌برداری‌هایی در ماههای شهریور، مهر و آبان سال ۱۳۸۱ از مزارع لوبیا سبز، خیار، گوجه فرنگی و کاهوی منطقه‌ی ورامین (پاکدشت، عسکر آباد، شعیب آباد و یوسف رضا) انجام شد. برگ‌های آلوده به لاروهای مینوز به روش آراکاکی و کینجو(۴) و پارکمن و همکاران (۹) در کیسه‌های پلاستیکی به آزمایشگاه منتقل شده و تا ظهور شفیره‌ها و حشرات بالغ در پتری‌دیش نگهداری شدند. مگس‌های بالغ ظاهر شده با استفاده از آسپیراتور و بطور روزانه به لوله‌های شیشه‌ای سرپیچ‌دار حاوی اتانول ۷۰ درصد منتقل گردیدند. مگس‌های بالغ و شفیره‌ها پس از شناسایی مقدماتی جهت تشخیص قطعی برای تشیرن هاوس[1] به آلمان ارسال شدند. پس از تأیید نهایی گونه، تعدادی از مگس‌های بالغ نر و ماده که در روزهای بعد ظاهر شده بودند روی بوته‌های لوبیا (*Phaseolus vulgaris*) رقم ساندری در اتاقک رشد رهاسازی گردیدند. رقم مزبور جهت تشکیل جمعیت آزمایشگاهی مورد نیاز از مگس *L. sativae* تا ۳۰ نسل (۲۲) مورد استفاده قرار گرفت.

آزمون آنتي بيوز

در این آزمایش تعدادی از ارقام لوبیا با نام‌های بهمن، پرستو، تلاش، صیاد، ناز، یاس(تهیه شده از بانک ژن گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه تهران) که براساس نتایج حاصل از غربال اولیه انتخاب شده بودند (۲) به روش No-Choice Assay و به منظور حداکثر تغذیه و تخم‌گذاری، مورد ارزیابی قرار گرفتند و برخی از شاخص‌های زیستی حشره روی آنها اندازه‌گیری شد. بذور این ارقام در گلدان‌های پلاستیکی HP با قطر دهانه‌ی ۸ وارتفاع ۹/۵ سانتیمتر کاشته شده و تا مرحله‌ی ۶ برگی درون محفظه‌های استوانه‌ای و روی یکی از سکّوهای اتاقک رشد در شرایط فیزیکی و محیطی تقریباً یکنواختی پرورش داده شدند. محفظه‌های استوانه‌ای از جنس طلق شفاف ۳۰/۳۰ به قطر ۱۵ و ارتفاع ۳۰ سانتیمترساخته شده بود. سطح بالایی استوانه با یک توری و به کمک یک عدد کش حلقه‌ای ایزوله گردید. در مرحله‌ی ۶ برگی دو جفت مگس نر و ماده توسط آسپیراتور به درون هریک از محفظه‌های مذکور و روی بوته رهاسازی شدند.تمام مگس‌ها از لحاظ سنی مشابه بودند. یکسان سازی سن مگس‌ها به طریق زیر انجام پذیرفت. چند روز قبل از انجام آزمایش تعداد زیادی شفیره‌ی مگس از مخزن جمع‌آوری و درون یک پتری‌دیش قرار داده شدند. بطور روزانه مگس‌های بالغ ظاهر شده از پتری به خارج هدایت می‌شدند. در روز پنجم که حداکثر تعداد مگس‌های بالغ مشاهده گردید، تمامی مگس‌های بالغ ظاهر شده که دارای حداکثر ۱۲ ساعت اختلاف سنی بودند درون یک قفس توری به ابعاد ۷۵ × ۴۰ × ۳۰ سانتیمترکه محتوی ۴ گلدان و ۱۲ بوته‌ی لوبیا (رقم ساندری) بود رهاسازی شدند. پس از سه روز مگس‌های بالغ به کمک آسپیراتور از قفس مربوطه به محفظه‌های استوانه‌ای (تعبیه شده برای آزمون آنتی‌بیوز) منتقل شدند. این کار برای به حداکثر رساندن میزان تغذیه و تخم‌ریزی مگس‌ها انجام

1. Dr. Michael von Tschirnhaus, Fakultaet Biologie, Universitaet Bielefeld, Postfach 100131, 33501 Bielefeld, Germany

گرفت. زیرا پتانسیل تخم‌گذاری مگس‌های ماده از روز سوم افزایش می‌یابد (۱۹).

بیست و چهار ساعت پس از آغاز آزمایش مگس‌های بالغ با کمک آسپیراتور از محفظه‌ی طلقی خارج شدند. طی روزهای بعد متغیرهائی شامل تعداد سوراخ تغذیه‌ای-تخمگذاری، تعداد تونل لاروی، طول دوره جنینی، طول دوره‌ی لاروی، تعداد شفیره، طول دوره‌ی شفیرگی، درصد مرگ و میر لاروی و شفیرگی، وزن شفیره و نسبت جنسی بالغین در مشاهداتی با فواصل ۲۴ ساعت ثبت گردید. در ضمن نمونه‌برداری‌ها از لحاظ موقعیت قرار گرفتن برگ روی بوته و نیز سطوحی از برگ که در اختیار حشره قرار گرفته بود نیز استاندارد گردید (۲۱).

مگس‌های ماده جهت تغذیه، سطح برگ را با تخمریز اره‌ای خود سوراخ نموده و پس از تغذیه فقط در بعضی از سوراخ‌ها تخمگذاری می‌نمایند. بنابراین تمام سوراخ‌های کلروزه شده‌ی سطح برگ در روز دوم به عنوان سوراخ‌های تغذیه‌ای در روز اول در نظر گرفته شد، اما چون مشاهده‌ی تخم در بافت برگ فقط با روش رنگ آمیزی امکان‌پذیر است لذا تعداد تونل‌های سن اول لاروی در روز چهارم آزمایش بر اساس روش پارکمن و همکاران (۱۹۸۹) معادل تعداد تخم‌های گذاشته شده در روز اول آزمایش در نظر گرفته شد. داده برداری‌ها در ساعت ۱۱ صبح و ۴ ساعت پس از روشن شدن چراغ‌ها انجام شد زیرا به نظر می‌رسد که تغذیه و تخم‌گذاری توسط ماده‌ها عمدتاً در طول صبح اتفاق می‌افتدو بسامد این فعالیتها با دما رابطه‌ی مثبتی دارد(۱۱، ۲۰).

ارزیابی متغیرها در هر نوبت، همواره روی یک برگ از هر بوته که در ابتدا بطور تصادفی انتخاب شده بود انجام گرفت. با استفاده از یک لوپ دستی تعداد سوراخ و تونل در محدوده‌ی کادر ۲×۲ سانتیمتر (۴ سانتیمتر مربع) شمرده شد. کلیّه شفیره‌های تولید شده در یک محفظه طلقی، با ترازوی مدل Sartorius توزین شده و معّدل وزن یک شفیره در هر محفظه‌ی طلقی بدست آمد.

تجزیه و تحلیل آماري: داده‌های ثبت شده پس از اعمال تبدیل‌های لازم جهت نرمال کردن داده‌ها با کمک نرم‌افزار SPSS 10.0.5 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. وجود اختلاف آماری در میان ارقام با استفاده از تجزیه واریانس یک‌طرفه (ANOVA) بررسی شد و در صورت وجود اختلاف معنی‌دار، تیمارها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه‌ی آماری شدند. داده‌های مربوط به تعداد سوراخ تغذیه‌ای و تعداد تونل لاروی با لگاریتم پایه ۱۰ و داده‌های مربوط به نسبت تعداد تونل به سوراخ، درصد مرگ و میر لاروی و شفیرگی با $ArcSin\sqrt{x}$ نرمال شدند. اختلاف بین ارقام مورد آزمایش در آزمون آنتی بیوز در حالت کلی بوسیله‌ی آنالیز واریانس چند متغیره (MANOVA) و با استفاده از برخی شاخص‌های اندازه‌گیری شده مورد بررسی قرار گرفت. در این تجزیه و تحلیل از روش‌های Wilks' Lambda، Hotelling's Trace و Roy's Largest Root استفاده گردید. ارقام لوبیا با استفاده از برخی صفات اندازه‌گیری شده شامل طول دوره‌ی جنینی، طول دوره‌ی لاروی، درصد مرگ و میر لاروی، وزن شفیره، دوره‌ی شفیرگی، درصد مرگ ومیر شفیرگی و نسبت جنسی توسط تجزیه‌ی کلاستر با تکنیک سلسله مراتبی و به روش Ward (1963) طبقه‌بندی شدند (۲۷). در این روش برای اندازه‌گیری فاصله‌ها از مجذور فاصله‌ی اقلیدسی استفاده شد. این تجزیه نیز بوسیله‌ی نرم‌افزار SPSS 10.0.5 انجام گرفت.

نتایج

تجزیه واریانس چند متغیره تفاوت معنی‌داری را بین تمامی ارقام مورد بررسی در سطح احتمال ۰/۰۱ به اثبات رساند (جدول ۱). شاخص‌های بکار رفته در این تجزیه عبارت بودند از: طول دوره جنینی، طول دوره لاروی، درصد مرگ و میر لاروی، طول دوره‌ی شفیرگی، وزن شفیره، درصد مرگ و میر شفیرگی و نسبت جنسی. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از تجزیه واریانس یک‌طرفه نشان داد که ارقام مورد آزمایش از لحاظ تعداد سوراخ‌های تغذیه‌ای، تعداد تونل لاروی، نسبت تعداد تونل به سوراخ، طول دوره‌ی لاروی و درصد مرگ و میر لاروی در سطح احتمال ۰/۰۱ اختلافات معنی داری با هم دارند، اما تفاوت معنی‌داری در طول دوره‌ی جنینی، طول دوره‌ی شفیرگی، وزن شفیرگی، درصد مرگ و میر شفیرگی و نسبت جنسی بین ارقام مورد مطالعه‌ی لوبیا مشاهده نشد (جدول ۲).

جدول ۱- تجزیه واریانس چند متغیّره برای شاخص‌های اندازه‌گیری شده در آزمون آنتی‌بیوز که توسط مگس مینوز *L. sativae* در ۶ رقم لوبیا ایجاد شده است.

روش	ارزش	F	درجه‌ی آزادی تیمار	درجه‌ی آزادی اشتباه	P
Wilks' Lambda	۰/۰۳۹	۲/۵۸۵**	۳۵/۰۰۰	۷۸/۱۴۹	۰/۰۰
Hotelling's Trace	۱۲/۳۸۷	۵/۸۰۴**	۳۵/۰۰۰	۸۲/۰۰۰	۰/۰۰
Roy's Largest Root	۱۱/۴۰۳	۳۵/۸۳۸**	۷/۰۰۰	۲۲/۰۰۰	۰/۰۰

**اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۱

جدول ۲- تجزیه واریانس یک‌طرفه برای شاخص‌های اندازه‌گیری شده در آزمون آنتی بیوز که توسط مگس مینوز *L. sativae* در ۶ رقم لوبیا ایجاد شده است.

منابع تغییرات	MS	F	P
سوراخ تغذیه‌ای	۳۵۱/۵۵۳	۸/۷۳۱**	۰/۰۰۰
تونل لاروی	۴۳/۸۹۳	۱۴/۹۶۴**	۰/۰۰۰
نسبت تونل به سوراخ	۰/۰۱۲	۵۶/۶۴۲**	۰/۰۰۰
طول دوره‌ی جنینی	۰/۰۰۱	۰/۰۳۵^{ns}	۰/۹۹۹
طول دوره‌ی لاروی	۰/۸۴۲	۳۹/۳۲۸**	۰/۰۰۰
درصد مرگ و میر لاروی	۰/۱۱۴	۷/۵۷۰**	۰/۰۰۰
وزن شفیره	۱۵/۱۵۳	۰/۱۸۲^{ns}	۰/۹۶۷
دوره‌ی شفیرگی	۰/۰۰۵	۰/۰۹^{ns}	۰/۹۹۳
درصد مرگ و میر شفیرگی	۰/۰۰۷	۰/۳۷۵^{ns}	۰/۸۶۱
نسبت جنسی	۰/۰۱۵	۰/۳۴۳^{ns}	۰/۸۸۱

در تمامی آزمایش‌ها درجه‌ی آزادی تیمار ۵ و درجه‌ی آزادی اشتباه ۲۴ بوده است. ** اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۱

ns: عدم وجود اختلاف معنی‌دار

در این آزمون رقم یاس با میانگین ۲/۱۸±۴۱/۴۰ دارای بیشترین و رقم پرستو با میانگین ۱/۹۶±۱۹/۶ دارای کمترین تعداد سوراخ تغذیه‌ای در بین ارقام مورد مطالعه بودند. همچنین ارقام یاس و پرستو با میانگین ۰/۵۸±۱۰/۸ و ۰/۴۵±۴/۰۰ به ترتیب بیشترین و کمترین تعداد تونل لاروی را در سطح برگ داشتند. تجزیه واریانس یک‌طرفه اختلاف معنی‌داری را در سطح احتمال ۰/۰۱ بین ارقام نشان داد و ارقام بر این اساس و با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ گروه‌بندی شدند(جدول ۳). نسبت تونل به سوراخ در رقم ناز با میانگین ۰/۰۱±۰/۳۲۵۷ بیشترین و در رقم پرستو با میانگین ۰/۰۱± ۰/۲۰۳۶ کمترین مقدار را به نمایش گذاشت. تجزیه واریانس یک‌طرفه اختلاف معنی‌داری را در سطح احتمال ۰/۰۱ بین ارقام نشان داد. متعاقباً گروه‌بندی ارقام با آزمون دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ بعمل آمد (جدول ۳).

جدول ۳- میانگین تعداد سوراخ تغذیه‌ای، تونل لاروی و نسبت تعداد تونل به سوراخ توسط مگس*L. sativae* در ۶ رقم لوبیا

رقم	تعداد سوراخ تغذیه‌ای	تعداد تونل لاروی	نسبت تونل به سوراخ
	خطای معیار± میانگین (در ۴ سانتیمتر مربع برگ)		
بهمن	۳۱/۲۰±۳/۲۹ b	۹/۴۰±۰/۹۳a	۰/۳۰±۰/۰۱b
پرستو	۱۹/۶۰±۱/۹۶c	۴/۰۰±۰/۴۵b	۰/۲۰±۰/۰۱d
تلاش	۲۱/۶۰±۱/۵۴c	۴/۶۰±۰/۴۰b	۰/۲۱±۰/۰۰d
صیاد	۳۶/۴۰±۳/۵۰ab	۹/۶۰±۰/۸۱a	۰/۲۷±۰/۰۱c
ناز	۳۰/۸۰±۳/۷۷b	۱۰/۰۰±۱/۱۴a	۰/۳۳±۰/۰۱a
یاس	۴۱/۴۰±۲/۱۸a	۱۰/۸۰±۰/۵۸a	۰/۲۶±۰/۰۰c

میانگین‌ها با حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

طول دوره‌ی جنینی حشره روی کلیه‌ی ارقام مورد آزمایش تقریباً مشابه بود و از ۰/۰۲±۳/۳۳ روز در رقم بهمن تا ۰/۱۷±۳/۳۷ روز در رقم تلاش نوسان داشت. تجزیه واریانس یک‌طرفه اختلاف معنی‌داری را از این لحاظ بین ارقام نشان نداد. اما تجزیه و تحلیل داده‌ها بیانگر این بود که ارقام مورد آزمایش از لحاظ طول دوره‌ی لاروی و نیز درصد مرگ و میر لاروی اختلافات فاحشی با هم دارند و تفاوت بین ارقام در هر دو شاخص در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی‌دار شناخته شد. بنابراین ارقام با آزمون دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ گروه‌بندی شدند (جدول ۴). طول دوره‌ی لاروی در رقم پرستو با میانگین ۰/۰۵±۸/۰۵ روز دارای بیشترین و در رقم بهمن با میانگین ۰/۱۲±۶/۹۴ روز دارای کمترین مقدار بود. به همین ترتیب رقم پرستو با میانگین ۱۰/۲۲±۳۶/۶۷ درصد و رقم یاس با میانگین ۲/۴۲±۳/۸۹ درصد به ترتیب بیشترین و کمترین مرگ و میر لاروی را ایجاد نمودند (جدول ۴).

جدول ۴- میانگین طول دوره‌ی جنینی و لاروی و درصد مرگ و میر لاروی در مگس مینوز *L. sativae* روی ۶ رقم لوبیا

رقم	طول دوره‌ی جنینی(روز)	طول دوره‌ی لاروی(روز)	مرگ و میر لاروی(٪)
	خطای معیار± میانگین		
بهمن	۳/۳۳±۰/۰۲ a	۶/۹۴±۰/۱۲c	۷/۳۷±۳/۲۶b
پرستو	۳/۳۵±۰/۰۶a	۸/۰۵±۰/۰۵a	۳۶/۶۷±۱۰/۲۲a
تلاش	۳/۳۷±۰/۱۷a	۷/۱۳±۰/۰۵bc	۳۰/۶۷±۵/۲۹a
صیاد	۳/۳۴±۰/۰۶a	۷/۰۸±۰/۰۳bc	۴/۰۰±۲/۴۵b
ناز	۳/۳۶±۰/۰۴a	۷/۰۲±۰/۰۵bc	۹/۹۴±۲/۶۳b
یاس	۳/۳۵±۰/۰۵a	۷/۱۵±۰/۰۵b	۳/۸۹±۲/۴۲b

میانگین‌ها با حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

بررسی احتمال وجود اختلاف آماری در تمامی شاخص‌های اندازه‌گیری شده در مرحله‌ی شفیرگی با تجزیه واریانس یک‌طرفه به انجام رسید اما هیچکدام از شاخص‌های اندازه‌گیری شده در این مرحله اختلاف معنی‌داری را بین ارقام نشان ندادند. طول دوره‌ی شفیرگی از ۱۰/۰۴±۰/۰۳ روز در رقم بهمن تا ۱۰/۱۳±۰/۲۳ روز در رقم یاس متغیر بود. وزن شفیره‌های تولید شده روی رقم پرستو با میانگین ۳۴۹/۰۰±۲/۷۷ میکروگرم کمتر از سایر ارقام مشاهده گردید و در رقم ناز با میانگین ۴/۴۰ ±۳۵۳/۸۰ میکروگرم بیشترین مقدار را نشان داد. درصد مرگ و میر شفیرگی نیز با وجود نوسانات کم، فاقد هر گونه اختلاف معنی‌دار در بین ارقام بود (جدول ۵).

جدول ۵- میانگین وزن شفیره، طول دوره‌ی شفیرگی و درصد مرگ و میر شفیرگی در مگس مینوز *L. sativae* روی ۶ رقم لوبیا

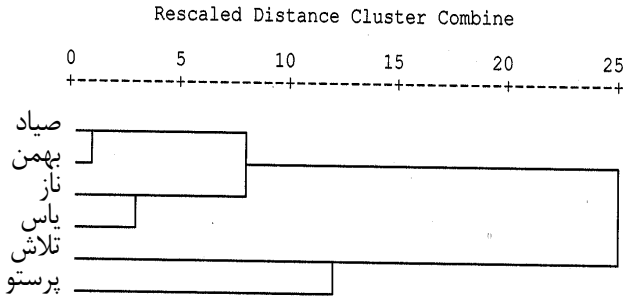
رقم	وزن شفیره(میکروگرم)	طول دوره‌ی شفیرگی(روز)	مرگ و میر شفیرگی(٪)
	خطای معیار± میانگین		
بهمن	۳۵۰/۴۰±۴/۷۶	۱۰/۰۴±۰/۰۳	۹/۳۶±۲/۴۸
پرستو	۳۴۹/۰۰±۲/۷۷	۱۰/۰۹±۰/۰۳	۱۶/۶۷±۱۰/۵۴
تلاش	۳۵۰/۰۰±۳/۳۶	۱۰/۰۷±۰/۰۸	۱۱/۶۷±۷/۲۶
صیاد	۳۵۲/۴۰±۳/۹۸	۱۰/۰۵±۰/۰۳	۸/۱۱±۴/۰۹
ناز	۳۵۳/۸۰±۴/۴۰	۱۰/۰۸±۰/۰۶	۷/۸۳±۳/۳۷
یاس	۳۵۱/۴۰±۴/۸۲	۱۰/۱۳±۰/۲۳	۸/۱۴±۲/۱۳

ارقام لوبیا در هیچکدام از صفات اندازه‌گیری شده در سطح ۵٪ با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند(به جدول ۲ مراجعه شود).

نسبت جنسی با شمارش تعداد حشرات ماده و نر تولید شده در هر تکرار و روی هر رقم، تجزیه و تحلیل شد. فرض صفر مبنی بر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تعداد افراد نر با تعداد افراد ماده در ارقام مختلف با استفاده از آزمون χ^2 مورد قبول واقع شد. بنابراین نسبت جنسی مساوی در جمعیت حشرات کامل تولیدشده روی هر رقم برقرار است (جدول ۶). بطور کلی برای طبقه‌بندی شش رقم لوبیا از لحاظ خاصیت آنتی‌بیوزی از تجزیه‌ی کلاستر استفاده شد. برای این منظور صفات مهمی نظیر: طول دوره‌ی جنینی، طول دوره‌ی لاروی، درصد مرگ و میر لاروی، وزن شفیره، دوره‌ی شفیرگی، درصد مرگ ومیر شفیرگی و نسبت جنسی مورد استفاده قرار گرفتند. در صورتیکه ارقام مورد مطالعه را بر اساس فاصله‌ی ۱۵ مجزا نماییم، ارقام مزبور به ۳ گروه عمده تقسیم خواهند شد که عبارتند از: ۱- پرستو و تلاش، ۲- یاس و ناز، ۳- بهمن و صیاد (شکل ۱).

جدول ۶- آزمون χ^2 برای نسبت جنسی در مگس مینوز *L. sativae* روی ۶ رقم لوبیا

رقم	تعداد نر	تعداد ماده	χ^2	df	P
بهمن	۱۸	۲۱	۰/۲۳۱	۱	۰/۶۳۱
پرستو	۴	۶	۰/۴۰۰	۱	۰/۵۲۷
تلاش	۵	۹	۱/۱۴۳	۱	۰/۲۸۵
صیاد	۲۱	۲۱	-	-	-
ناز	۱۸	۲۴	۰/۸۵۷	۱	۰/۳۵۵
یاس	۲۲	۲۶	۰/۳۳۳	۱	۰/۵۶۴



شکل ۱- دندروگرام مقاومت آنتی‌بیوزی ۶ رقم لوبیا به مگس مینوز *L. sativae* به روش Ward (1963)

بحث

شاخص‌های اندازه‌گیری شده در آزمون آنتی‌بیوز و تجزیه و تحلیل آماری آنها نشان داد که تأثیر ارقام مختلف لوبیا روی شاخص‌های زیستی حشره بیشتر در مرحله‌ی لاروی بروز می‌نماید و مرحله‌ی جنینی و شفیرگی را به طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار نمی‌دهد. شمارش تعداد سوراخ‌های تغذیه‌ای وتعداد تونل لاروی در آزمون آنتی‌بیوز که به روش No-Choice Assay انجام شد نشان داد که ارقام مورد مطالعه تفاوت‌های معنی‌داری با هم دارند. تفاوت در تعداد تونل‌های لاروی در ارقام مورد آزمایش می‌تواند به دلیل اثرات آنتی‌زنوز تخم‌ریزی و آنتی‌بیوزی برگ‌ها باشد. در این آزمایش تفکیک این دو سازوکار به راحتی امکان پذیر نبود، زیرا شمارش تعداد تخم‌های گذاشته شده توسط ماده‌های بالغ در بافت گیاهی فقط با روش رنگ‌آمیزی امکان‌پذیر است. بنابراین در این آزمون تعداد تونل لاروی سن اول به روش پارکمن و همکاران (۱۹۸۹) به عنوان تعداد تخم‌های گذاشته شده مورد قضاوت قرار گرفت. هرچند در آزمون آنتی‌بیوز تفاوت معنی‌داری از لحاظ طول دوره‌ی جنینی مینوز روی ارقام مشاهده نشد اما در صورتیکه اثرات آنتی‌بیوزی برگ، تخم‌ها یا لاروهای تازه تفریخ شده‌ی سن اول را تحت تأثیر قرار دهد آنگاه قضاوت تعداد تخم‌های گذاشته شده توسط ماده‌های بالغ از روی تونل‌های سن اول لاروی با خطای زیادی همراه خواهد بود.

سطوح تغذیه‌ای و تخمگذاری ماده‌های بالغ در آزمون آنتی‌بیوز که به روش No-Choice Assay انجام گرفت بسیار بالاتر از آزمون آنتی‌زنوز در همین ارقام مشاهده گردید. اما نسبت تعداد تونل به سوراخ در هر دو آزمایش برای این ارقام تقریباً یکسان بود. مثلاً در آزمون آنتی‌زنوز که به روش Free Choice Assay انجام گرفت، نسبت تونل به سوراخ در رقم ناز و پرستو به ترتیب معادل ۰/۰۴±۰/۳۵ و ۰/۲۲±۰/۲۲ بود (۲). همچنین این ارقام در آزمون آنتی‌بیوز نیز به ترتیب با میانگین ۰/۰۱±۰/۳۳ و ۰/۰۱±۰/۲۰ دارای بیشترین و کمترین نسبت تونل به سوراخ بودند. مقایسه‌ی این میانگین‌ها نشان می‌دهد که اگرچه در روش No-Choice Assay میزان تغذیه و تخم‌گذاری ماده‌های بالغ روی ارقام افزایش می‌یابد اما روند این افزایش تقریباً ثابت مانده و تغییرات زیادی در نسبت تعداد تونل به سوراخ ایجاد نمی‌شود. لذا می‌توان از این شاخص به عنوان یک معیار خوب جهت ارزیابی ارقام لوبیا استفاده نمود. این موضوع در تحقیقات پارلا (۱۹۸۷) نیز بخوبی آشکار شد. این محقق بیان کرد که می‌توان از این نسبت جهت ارزیابی گیاهان میزبان و تعیین خصوصیات زیستی گونه‌های مختلف *Liriomyza* استفاده نمود. البته این نسبت‌ها علاوه بر گیاه میزبان می‌توانند تحت تأثیر دما و موقعیت برگ روی بوته نیز تغییر نمایند. برای اینکه بتوان این نسبت‌ها را در آزمون‌ها ملاک ارزیابی قرار داد، آزمایش‌ها باید از لحاظ گیاهان میزبان، دما و وضعیت برگ استاندارد شوند.

ابعاد تخم‌ها پس از تخم‌گذاری افزایش می‌یابد که احتمالاً از طریق جذب مایعات از بافت گیاهی صورت می‌گیرد(۲۱). اما فقدان اختلاف معنی دار در طول دوره‌ی جنینی در ارقام مورد مطالعه ثابت کرد که طول این دوره احتمالاً تحت تأثیر میزبان‌های گیاهی قرار نمی‌گیرد. در این آزمایش امکان بررسی درصد مرگ و میر جنینی به دلایل ذکر شده فراهم نبود اما پارلا (۱۹۸۷) عدم تفریخ تخم‌ها را در جنس *Liriomyza* تا ۲۰٪ تخمین زد و تغییرات آنرا به دمای محیط نسبت داد. مثلاً شانزده روز ماندن در دمای ۱/۱Ċ کافی است تا باعث صددرصد مرگ و میر در تخم‌های *L. trifolii* روی کرفس گردد (۱۳). طول دوره‌ی رشد و نمو تخم نیز با دما تغییر می‌کند و از ۲ تا ۸ روز در نوسان است.

رشد و نمو لاروی با توجه به دما و گیاه میزبان تغییر می‌کند. نرخ متابولیسم لاروها به ازای افزایش هر ۱۰ درجه‌ی سانتیگراد دو برابر می‌شود، اما مقدار کل بافت برگ که توسط لاروها مصرف می‌شود صرفنظر از دما ظاهراً ثابت باقی می‌ماند (۵). بعلاوه زمان رشد و نمو لاروی روی یک میزبان خاص نیز بطور قابل ملاحظه‌ای با موقعیت و سن برگ ارتباط دارد (۲۱). رقابت درون گونه‌ای لاروهای مینوز در شرایط آزمایشگاه یا مزرعه نیز ممکن است بقاء، اندازه‌ی لاروها، شفیره‌ها و بدین ترتیب اندازه‌ی حشره‌ی بالغ را کاهش دهد (۱۷). همچنین رقابت برون گونه‌ای با کنه‌ها و شته‌ها ممکن است با تأثیر بر رشد و نمو لاروی مانع از افزایش جمعیت *Liriomyza* گردد

(۱۷). در این تحقیق ثابت شد که در دمای ثابت و عدم حضور حشرات رقیب، طول دوره‌ی لاروی و درصد مرگ و میر لاروی به‌شدت تحت تأثیر میزبان‌های گیاهی قرار می‌گیرد و ارقام لوبیا از این لحاظ تأثیرات معنی‌داری روی این شاخص‌ها گذاشتند. نتایج بدست آمده نشان دادند که عامل آنتی‌بیوزی برگ بیشترین تأثیر را به ترتیب روی طول دوره‌ی لاروی و درصد مرگ و میر لاروی داشته است ولی اثر آنتی‌بیوزی در هیچ‌یک از صفات اندازه‌گیری شده در مرحله‌ی شفیرگی و حشره‌ی کامل معنی دار نبود.

در تحقیقی که توسط ترامبل و همکاران (۲۰۰۰) به منظور شناسایی منابع مقاومت در واریته‌های کرفس به روش No-Choice Design اجرا شد، واریته‌های مقاوم علاوه بر تعداد کمتر سوراخ تغذیه‌ای، امکان کمتری را نیز برای رشد و نمو لاروی فراهم نمودند. این تحقیق نشان‌دهنده‌ی مقاومت آنتی‌زنوزی و آنتی‌بیوزی واریته‌های کرفس به مینوز *L. trifolii* بود. همچنین در مطالعه‌ی برهم کنش مینوز *L. trifolii* و کولتیوارهای مختلف گل داودی معلوم شد که فقط بقای اولین و دومین سن لاروی تحت تأثیر مقاومت گیاه قرار می‌گیرد. در این تحقیق کاهش تخمگذاری نیز مشاهده گردید (۱۰). تنوع ژنتیکی بعضی از لاین‌های گوجه فرنگی برای تاثیر روی دوره‌ی رشد و نمو، باروری و مرگ و میر در *Liriomyza trifolii* مطالعه شد. اکثر لاین‌های گونه‌ی *Lycopersicon hirsutum* کاملاً مقاوم بودند که اساساً در کاهش تولید مثل و بقای لاروی بروز نمود(۲۵).

محیطی که شفیره شدن در آن اتفاق می‌افتد روی رشد و نمو موفقیت آمیز شفیره به حشره‌ی کامل تأثیر می‌گذارد (۱۸). به نظر می‌رسد که وزن شفیره، زمان رشد و نمو و درصد ظهور بالغین از شفیره صرفنظر از گیاه میزبان ثابت باشد (۲۸). اما دما می‌تواند طول این دوره را تحت تأثیر قرار دهد. در تحقیق حاضر نیز که در دمای ۱±۲۵ درجه‌ی سانتیگراد و رطوبت نسبی ۵± ۵۵ درصد انجام شد، هیچگونه تفاوت معنی‌داری در طول دوره و بقای شفیره‌ها در ارقام مختلف لوبیا مشاهده نشد.

مطالعات قبلی روی نسبت جنسی گونه‌های *Liriomyza* بیانگر نسبت جنسی ۱:۱ می‌باشد و پرورش آزمایشگاهی متمرکز *L. trifolii* نیز تقریباً نسبت جنسی ۱:۱ را برای بالغین در حال ظهور نشان داده است (۲۱). آزمون χ^2 انجام شده برای نسبت جنسی در مگس مینوز *L. sativae* در تحقیق حاضر، هرگونه اختلاف معنی‌دار بین تعداد افراد نر و ماده را در ارقام مختلف لوبیا رد کرد و لذا در این مطالعه نیز نسبت جنسی ۱:۱ در حشرات کامل خارج شده از شفیره برقرار می‌باشد. و به این ترتیب عامل آنتی‌بیوزی ارقام لوبیا در هیچکدام از صفات اندازه‌گیری شده‌ی حشره در مرحله‌ی شفیرگی و حشره‌ی کامل تأثیر معنی‌داری را نشان نداد.

نتایج آزمون‌های فوق تنوع ژنتیکی معنی‌داری را در بین ارقام مورد مطالعه به اثبات رساند. مثلاً درصد مرگ و میر لاروی در ارقام مزبور از ۳/۸۹ در رقم یاس تا ۳۶/۶۷ در رقم پرستو در نوسان بود. این نتایج سطح بالایی از مقاومت به مینوز را در مقاوم‌ترین رقم یعنی پرستو نشان نمی‌دهد، لذا استفاده از این رقم در مزارع آلوده نمی‌تواند منجر به گزینش جمعیت‌های مقاومت‌شکن حشره گردد. سطوح مقاومتی مشاهده شده در ارقام لوبیا نویدبخش استفاده از ارقام مقاوم در مدیریت تلفیقی این آفت و کاستن از اثرات سوء زیست محیطی و انسانی ناشی از سمپاشی‌های مکرّر روی این آفت خواهد بود. استفاده از این تکنیک مصرف آفتکش‌ها را پایین آورده و سلامت و ایمنی کشاورزان و مصرف کنندگان را بهبود می‌بخشد و پتانسیل آلودگی محیط زیست و عوامل مفید بیولوژیک که نقش بسیار مؤثری در کنترل این آفت دارند (۱۵) را به حداقل می‌رساند. از این ارقام می‌توان به عنوان منابع ژن مقاوم در اصلاح لوبیا بهره‌برداری کرد و مقاومت به مینوز را در یک برنامه‌ی اصلاحی به کولتیوارهای برگزیده‌ی لوبیا انتقال داد. از طرف دیگر ارقام حساس لوبیا را می‌توان در پرورش آزمایشگاهی لاروهای مگس مینوز به منظور تولید انبوه زنبورهای پارازیتویید بکار گرفت.

سپاسگزاری

از آقای پروفسور M. V. Tschirnhaus به خاطر تشخیص نمونه‌های مگس و از گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه تهران به خاطر در اختیار گذاشتن بذور لوبیا تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع مورد استفاده REFERENCES

۱. باقری، ع.، ع. محمودی، و ف. دین‌قزلی. ۱۳۸۰. زراعت و اصلاح لوبیا. (تألیف شونهوون و ویست) چاپ اول. انتشارات‌جهاددانشگاهی مشهد، ۵۵۶ صفحه.

۲. ظهیری، ب.، س. محرمی‌پور، ع. ا. طالبی، و ی. فتحی‌پور. ۱۳۸۲. مقاومت آنتی‌زنوزی ارقام مختلف لوبیا به مگس مینوز *Liriomyza sativae* (Dip.: Agromyzidae) در اتاقک رشد. نامه‌ی انجمن حشره شناسی ایران، جلد ۲۳ شماره ۲ صفحات ۵۹-۷۵.

۳. کلانترهرمزی، ف.، ا. صحراگرد، ر. مهاجری، و ج. جلالی‌سندی. ۱۳۷۹. معرفی مگس مینوز سبزی و صیفی *Liriomyza sativae* Blanchard (Diptera: Agromyzidae) در استان خوزستان. خلاصه مقالات چهاردهمین کنگره‌ی گیاهپزشکی ایران. اصفهان. صفحه‌ی ۲۵۱.

4. Arakaki, N. & K. Kinjo. 1998. Notes on the parasitoid fauna of the serpentine leafminer *Liriomyza trifolii* (Burgrss) (Diptera: Agromyzidae) in Okinawa, southern Japan. Applied Entomology and Zoology, 33: 577-581.
5. Bodri, M. S. & R. D. Oetting. 1985. Assimilation of radioactive phosphorous by *Liriomyza trifolii* (Burgess) (Diptera: Agromyzidae) from feeding at different temperature on different chrysanthemum cultivars. Proceedings of Entomological Society of Washington, 87: 770-776.
6. Brewster, C. C. & J. C. Allen. 1991. Simulation of plant resistance in a celery-leaf miner-parasitoid model. Florida Entomologist, 74: 24-41.
7. Capinera, J. L. 2001. Vegetable leafminer. *Liriomyza sativae*. University of Florida, Department of Entomology and Nematology [*on line*]. Available on: http://creatures.ifas.ufl.edu/veg/leaf/ vegetable leafminer. htm.
8. Deeming, J. C. 1992 .*Liriomyza sativae* Blanchard (Diptera: Agromyzidae) established in the Old World. Tropical Pest Management, 38: 218-219.
9. Deeming, J. C. & D. J. Mann. 1999. Distributional notes on two economically important Agromyzidae (Diptera) in West Africa. Entomologist's Monthly Magazine, 135: 205-206.
10. Dijk, M. J., J. Jong, J. C. M. Knaap, E. Meijden, M. J. Van Dijk, J. Jong, J. C. M. Van der Knaap, J. C. M. Der Knaap, E. Van der Meijden & E. Der Meijden. 1993. The interaction between *Liriomyza trifolii* and different chrysanthemum cultivars. Bulletin OILB-SROP, 16: 101-108.
11. Fagoonee, I. & V. Toory. 1984. Contribution to the study of the biology and ecology of the leafminer *Liriomyza trifolii* and its control by Neem. Insect Science Applied, 5: 23-30.
12. Issa, S. & R. Marcano. 1993. Spatial and vertical distribution of *Liriomyza sativae* Blanchard (Diptera: Agromyzidae) on tomato. Boletin de Entomologia Venezolana, 8: 115-122.
13. Liebee, G. L. 1985. Effects of storage at 1.1˚C on the mortality of *Liriomyza trifolii* (Burgess) (Diptera: Agromyzidae) life stage in celery. Journal of Economic Entomology, 78: 407-411.
14. Mou, B. & E. J. Ryder. 2003. Screening and breeding for resistance to leafminer (*Liriomyza langeri*) in lettuce and spinach. Eucarpia Leafy Vegetables, 20: 43-47
15. Murphy, S. T. & J. LaSalle. 1999. Balancing biological control strategies in the IPM of New World invasive *Liriomyza* leaf miners in field vegetable crops. Biocontrol News and Information, 20: 91-104.
16. Nagata, R. T., L. M. Wilkinson & G. S. Nuessly. 1998. Longevity, fecundity, and leaf stippling of *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) as affected by lettuce cultivar and supplemental feeding. Journal of Economic Entomology, 91: 999-1004.
17. Oatman, E. R. 1960. Intraspecific competition studies of the melon leafminer, *Liriomyza pictella* (Thomson). Annals of Entomological Society of America, 53: 130-131.
18. Oetting, R. D. 1983. The influence of selected substrates on *Liriomyza trifolii* emergence. Journal of Georgia Entomological Society, 18: 120-124.

19. Parkman, P., J. A. Dusky & V. H. Waddill. 1989. Biological studies of *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae) on casror bean. Environmental Entomology, 18: 768-772.
20. Parrella, M. P. 1984. Effect of temperature on oviposition, feeding and longevity of *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae). The Canadian entomologist.
21. Parrella, M. P. 1987. Biology of *Liriomyza*. Annual Review of Entomology, 32: 201-224.
22. Petitt, F. L. & D. O. Wietlisbach. 1994. Laboratory rearing and life history of *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae) on Lima Bean. Environmental Entomology, 23: 1416-1421.
23. Prasad, Y. G. & K. Anjani. 2001. Resistance to serpentine leaf miner (*Liriomyza trifolii*) in castor (*Ricinus communis*). Indian Journal of Agricultural Sciences, 71: 351-352.
24. Ronald, F. L. 1991. *Liriomyza sativae* (Blanchard). University of Hawaii, Department of Entomology [*on line*]. Available on: http://www.extento.hawaii.edu/kbase/crop/Type/liriom_s.htm.
25. Schoot, M., C. Mollema & M. Van der Schoot. 1994. Resistance in tomato to *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae). Proceedings of the Section Experimental and Applied Entomology of the Netherlands Entomological Society, 5: 139-140.
26. Trumble, J. T., M. M. Diawara, C. F. Quiros, N. J. Fokkema, M. A. Beek, N. A. M. Steekelenburg, G. Samyn, J. L. Maas, T. L. Robinson & M. N. J. Verhoyen. 2000. Breeding resistance in *Apium graveolens* to *Liriomyza trifolii*: antibiosis and linear furanocoumarin content. XXV International Congress, Part 3: Culture techniques with special emphasis on environmental implications, Brussels, Belgium, Acta Horticulture, 513: 29-37.
27. Ward, J. H. 1963. Hierarchical Grouping to Optimize an Objective Function. Journal of the American Statistical Association, 58: 236-244. [*on line*]. Available on: http://iv.slis.indiana.edu/sw/data/ward.pdf
28. Zoebisch, T. G., D. J. Schuster & J. P. Gilreath. 1984. *Liriomyza trifolii*: oviposition and development in foliage of tomato and common weed hosts. Florida Enomologist, 67: 250-254.