

شناسایی مولکولی گونه‌های پروانه‌های زنبورمانند درختان فضای سبز شهر اصفهان و تعیین شدت آلودگی درختان میزبان مختلف

بهمن ظریف‌نیا^۱، جهانگیر خواجه‌علی^{۲*}، افسانه مظاهری^۳ و محمدرضا سبزی‌علیان^۴

۱ و ۲. به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان ۳. کارشناس ارشد سازمان پارک‌ها و فضای سبز شهرداری اصفهان ۴. استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان

تاریخ دریافت: ۹۲/۵/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۲/۸/۲۰

چکیده

پروانه‌های زنبورمانند از خانواده Sesiidae یکی از مخرب‌ترین آفات چوبخوار درختان مثمر و غیر مثمر در کشورهای مختلف دنیا محسوب می‌شوند. با توجه به بروز خسارت شدید پروانه‌های زنبورمانند در فضای سبز شهر اصفهان، گونه‌های خسارت‌زا مورد شناسایی قرار گرفتند. درصد و شدت آلودگی گونه‌های مختلف درختی به این آفات با بازدید ۴۷۶۸ اصله درخت در ۱۴ منطقه شهرداری، دانشگاه صنعتی اصفهان و پارک جنگلی نازوان تعیین شد. شناسایی گونه‌ها، با استخراج DNA از مرحله لاروی و حشره کامل سپس واکنش زنجیره‌ای پلی-مرافز و توالی‌یابی ناحیه سیتوکروم اکسیداز یک (COI) انجام گرفت. نتایج توالی‌یابی مشخص کرد که گونه، *Synanthedon (Gorbunov) caucasica* روی چنار، نارون و سسک و نارون چتری و گونه *(=Eusphencia pimplaeformis) (Oberthür) Sesia pimplaeformis* روی بید و صنوبر خسارت‌زا می‌باشند. درصد آلودگی میزبان‌ها با محاسبه نسبت درختان آلوده به کل درختان و شدت آلودگی با محاسبه مجموع تعداد آلودگی فعال لاروی، آلودگی قدیمی (قبل) و پوسته سفیرگی روی تنه به ازای هر ۱۰ سانتی‌متر از قطر تنه درخت تعیین گردید. این بررسی با ۱۰ تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی و آزمایش تجزیه مرکب اجرا شد، به طوری که منطقه به عنوان عامل اصلی و میزبان به عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شد. با محاسبه رگرسیون خطی بین قطر درخت و شدت آلودگی، تاثیر قطر درخت بر شدت آلودگی نیز بررسی شد. از نظر درصد آلودگی نتایج نشان داد که ۵۳/۸٪ درختان چنار، ۶۴/۴٪ درختان نارون چتری، ۶۵/۶٪ درختان نارون و سسک، ۴۵/۲٪ درختان سپیدار و ۵۲/۶٪ درختان بید و در مجموع از کل درختان میزبان، ۵۳/۲٪ درختان آلوده به این آفات بودند. از نظر شدت آلودگی درختان نارون چتری با میانگین شدت آلودگی ۴/۲ بیشترین شدت آلودگی را به خود اختصاص داده و نارون و سسک، چنار، بید و سپیدار به ترتیب در درجات بعدی قرار داشتند. در این مطالعه هیچ گونه علائم آلودگی گونه‌های پروانه زنبورمانند روی درختان توت، ااقیا و زبان گنجشک مشاهده نشد. همبستگی بین قطر تنه و میزان آلودگی درختان مثبت ولی این همبستگی تنها در درختان نارون چتری و بید در سطح ٪ ۵ معنی‌دار بود.

واژه‌های کلیدی: Sesiidae، سیتوکروم اکسیداز یک، درصد و شدت آلودگی، آفات گیاهان زینتی

مقدمه

در مفهوم عام تمامی عرصه‌های طبیعی یا مصنوعی پوشیده از گیاهان به عنوان فضای سبز محسوب می‌شوند. بخشی از فضای سبز که در محدوده شهرها طراحی و ایجاد می‌شود، فضای سبز شهری نامیده می‌شود. فضای سبز باعث زیبایی آفرینی و ایجاد چشم اندازهای زیبا، تاثیرات مثبت روانی، هویت بخشی به معماری شهر و تاثیر در ساماندهی ترافیک می‌شود. همچنین فضای سبز یک دسته عملکردهای اکولوژیکی از جمله کاهش آلودگی هوا، کاهش آلودگی صوتی، تولید اکسیژن و جذب دی اکسید کربن، کنترل باد و تغییر ریز اقلیم را نیز موجب می‌شود (Hekmati, 2002).

آفات و بیماری‌های گیاهی از مهم‌ترین عوامل تهدیدکننده گونه‌های درختی فضای سبز هستند. از جمله این آفات می‌توان به سوسک شاخک بلند سار تا *Aeolesthes sarta* Solsky اشاره نمود که لاروهای آن از زیر پوست و قسمت‌های چوبی درختان نارون، بید، چنار و صنوبر تغذیه می‌کنند (Mazaheri et al., 2011). اخیراً یک گونه از پروانه‌های زنبورمانند به عنوان یک آفت مهم چنار در اصفهان گزارش شد. لاروهای این آفت در حد فاصل بافت زنده و چوب مشاهده شده و خسارت شدید آن‌ها باعث از بین رفتن کامل لایه زاینده پوست و در نتیجه خشک شدن تدریجی درختان چنار می‌شود (Emami et al., 2010).

پروانه‌های زنبورمانند (Lep.: Sesiidae) یکی از مخرب‌ترین آفات چوبخوار درختان مثمر و غیرمثمر در کشورهای مختلف دنیا محسوب می‌شوند. گونه‌های مختلف نارون، صنوبر، بید، چنار، زبان گنجشک، بلوط، سیب، تمشک، راش، درختان هسته‌دار، نارگیل و مو به عنوان میزبان‌های این خانواده از آفات گزارش شده‌اند. با توجه به وجود بیش از هزار گونه در این خانواده (Pühringer and Kallies, 2004)، و به دلیل اینکه شناسایی و رده‌بندی گونه‌های این خانواده بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی مشکل می‌باشد، در سال‌های اخیر از روش‌های مولکولی بیشتر بهره گرفته شده است (McKern et al., 2008; Hansen et al., 2012). محققین آمریکایی براساس تکثیر یک قطعه ۶۰۶ جفت بازی از سیتوکروم اکسیداز یک (COI) دی. ان.

آ. میتوکندریایی گونه‌های پروانه زنبورمانند با اهمیت اقتصادی را شناسایی کردند (McKern and Szalanski, 2007). همچنین این محققین بر اساس توالی سیتوکروم اکسیداز یک، اختلافات ژنتیکی در پروانه زنبورمانند (*Grote Synanthedon pictipes & Robinson*) را در آرکانزاس بررسی نمودند و نتیجه گرفتند که تفاوت‌های ژنتیکی بین جمعیت‌ها از ۰/۲ تا ۸/۸ درصد متغیر می‌باشد (McKern and Szalanski, 2008).

از مهم‌ترین گونه‌های پروانه زنبورمانند خسارت‌زا روی درختان مثمر و غیرمثمر در دنیا می‌توان به گونه‌های *S. Synanthedon myopaeformis* (Borkhausen) *S. exitiosa* (Say) و *S. scitula* (Harris) *pictipes* اشاره کرد (McKern and Szalanski, 2007). از دیگر آفات فضای سبز می‌توان به پروانه زنبورمانند صنوبر *Paranthrene tabaniformis* (Rambur) اشاره کرد که یکی از مهم‌ترین آفات چوب‌خوار درختان جوان صنوبر در مناطق شهری و قلمستان‌ها می‌باشد (Lastuvka and Lastuvka, 2001; Georgive, 2011). این گونه به طور وسیعی در اروپا، آسیا، آمریکای شمالی و آفریقای شمالی پراکنده شده است. پروانه‌های ماده، تخم‌گذاری روی صنوبر-های زخمی شده به وسیله هرس، برش و بیماری‌های پوستی را ترجیح می‌دهند و لاروها باعث ایجاد گال در نقطه آلودگی می‌شوند. این آفت در بلغارستان دارای یک نسل در سال بوده و به صورت لارو در چوب زمستان‌گذرانی می‌کند. خسارت این گونه در بلغارستان روی درختان پیر بیش از ۴۰ درصد بوده است (Lieutier et al., 2004; Georgive, 2011).

پروانه زنبورمانند (*Sesia apiformis* Oberthur) یکی دیگر از مهم‌ترین آفات صنوبر (*Populus spp.*) در سراسر نیمکره شمالی می‌باشد و گاه روی زبان گنجشک *spp.* *Fraxinus*، بید *Salix spp.*، نمدار *Tilia spp.* و توس *Betula spp.* خسارت‌زا می‌باشد (Garrevoet and Garrevoet, 2005). پروانه زنبورمانند *Podosesia syringae* (Harris) یکی از آفات درختان زبان گنجشک،

اخیر پروانه‌های زنبور مانند به آفات مهم درختان غیرمثمر در فضای سبز شهر اصفهان تبدیل شده‌اند ولی ترکیب گونه‌ای و میزان خسارت آن‌ها به‌طور دقیق مورد مطالعه قرار نگرفته است. با توجه به خسارت سنگین این گروه از آفات، تحقیق حاضر به‌منظور شناسایی گونه‌های خسارت‌زا و تعیین درصد و شدت آلودگی درختان فضای سبز شهر اصفهان به این آفات انجام شد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌ها

از مناطق مختلف شهر اصفهان ۱۰۰ لارو و ۳۰ شفیره پروانه زنبور مانند با پوست‌برداری از درختان چنار (*Platanus orientalis* L.)، نارون (*Ulmus carpinifolia* L.)، بید (*Salix alba* L.)، صنوبر (*Populus alba* L.)، سپیدار (*P. alba cv. Kabudeh* L.)، *Bumi* در طول سال ۱۳۹۱-۱۳۹۰ جمع‌آوری شد و سپس برای استخراج DNA و پرورش جهت جمع‌آوری حشرات کامل به آزمایشگاه منتقل شدند. همچنین برای جمع‌آوری بیشتر حشرات بالغ با بریدن درختان آلوده در فصل بهار و نگهداری آن‌ها در قفس تعداد زیادی حشره بالغ جمع‌آوری شد.

استخراج DNA

استخراج DNA از ۵۵ لارو و ۷ حشره کامل به روش موری و تامسون انجام شد (Murray and Thomson, 1980). کمیت و کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از الکتروفورز سه میکرولیتر از هر نمونه روی ژل آگاروز ۰/۷ درصد تعیین شد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز^۱ و توالی‌یابی^۲

مواد به کار رفته در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز شامل ۵ میکرولیتر DNA با غلظت ۲۵ ng/μl، ۰/۶ میکرولیتر آغازگر رفت (ATT CAA CCA ATC -' Lep F1:5'، ۰/۶ میکرولیتر 'ATA AAG ATA TTG G-3'، ۰/۶ میکرولیتر آغازگر برگشت (TAA ACT -' Lep R1:5')

یاس شیروانی *Lilac spp.* و خانواده Oleaceae می‌باشد (Solomon, 1991). خسارت این آفت در کانادا ۵۰ درصد تخمین زده شده است (Aurelian et al., 2006). محققین برای تعیین میزان آلودگی و درصد خسارت پروانه زنبورمانند بر روی چنار در اصفهان براساس تعداد محل آلودگی روی درخت ۵ درجه آلودگی تعیین نمودند (Emami et al., 2010). پروانه زنبورمانند *S. scitula* در مرکز و شرق آمریکا پراکنش دارد. بالغین این گونه در شکاف پوست درختان تخم‌گذاری و لاروها از لایه کامبیوم و آوندهای آبکش تغذیه می‌کنند. این گونه دامنه میزبانی وسیعی دارد که حداقل به ۱۹ گونه گیاهی از جمله زغال اخته، سیب، گردو، بلوط و دیگر درختان حمله می‌کند (Bergh et al., 2004). پروانه زنبور مانند *Synanthedon novaroensis* (Hy. Edwards) یکی از آفات مهم درختان کاج در فضای سبز می‌باشد (Lieutier et al., 2004). پروانه زنبورمانند *S. codeti* از چنار و *S. vespiformis* و *S. spuleri* از نارون تغذیه می‌کنند. همچنین گونه‌هایی مانند *Sesia* *pimplaeformis*، *S. apiformis* و *P. tabaniformis* چندین گونه دیگر روی بید و صنوبر خسارت‌زا می‌باشند (Lieutier et al., 2004). از گونه‌های مهم پروانه‌های زنبورمانند خسارت‌زا در ایران می‌توان به *S. myopaeformis* و *P. tabaniformis* اشاره نمود (Behdad, 1988). پروانه زنبور مانند (Kolenati) *Chamaesphecia schizoceriformis* به عنوان عامل کنترل بیولوژیک در کنترل علف هرز جنس (*L.*) spp. در *Euphorbia* در شمال غرب ایران مطالعه شده است (Karimpor et al., 2007). در سال ۱۳۸۹ پروانه زنبور مانند *S. caucasica* به عنوان آفت جدید درختان چنار در اصفهان گزارش شد و آلودگی به این آفت در بیش از ۹۵ درصد درختان چنار مشاهده شد (Emami et al., 2010). گونه *S. caucasica* در ایران فقط از مازندران قبلاً گزارش شده است به غیر از ایران هم تنها از کشور جمهوری آذربایجان گزارش و توصیف شده است (Emami et al., 2010). همچنین براساس مشاهدات نگارندگان در سال‌های

¹PCR

²Sequencing

ارتفاع ۵ متر بودند و همچنین ارتفاع درخت، وضعیت سبزینه گیاه و تعداد درختان آلوده به پروانه زنبور مانند شمارش و یادداشت گردید. سپس میزان و درصد آلودگی درختان مختلف در هر منطقه و همچنین در سطح شهر اصفهان تعیین شود. با توجه به این که مقایسه براساس درصد آلودگی معیار دقیقی در تعیین شدت آلودگی نمی‌باشد به منظور مقایسه صحیح‌تر شدت آلودگی بین درختان، مجموع تعداد آلودگی‌های فعال لاروی، پوسته شفیرگی و آلودگی قدیمی به ازای هر ۱۰ سانتی‌متر از قطر تنه درخت به عنوان شدت آلودگی تعیین شد و معادل n در نظر گرفته شد. و براساس میزان n ، پنج درجه آلودگی از ضعیف تا بسیار شدید تعریف شد. بر این اساس، در صورتی که $2 < n \leq 10$ باشد، درجه آلودگی آن درخت ضعیف تعیین شد. به همین ترتیب اگر $5 < n \leq 2$ درجه آلودگی به نسبت ضعیف، اگر $10 < n \leq 5$ درجه آلودگی متوسط، $20 < n \leq 10$ درجه آلودگی شدید و $n > 20$ درجه آلودگی بسیار شدید تعیین گردید. درختان به‌طور کامل سالم با $n=0$ بدون آلودگی در نظر گرفته شدند. با استفاده از طرح کاملاً تصادفی و آزمایش تجزیه مرکب که در آن برای هر میزبان ۱۰ تکرار به صورت تصادفی انتخاب شد (تیمار اصلی: منطقه و تیمار فرعی: میزبان)، شدت آلودگی در مناطق مختلف شهری و گونه‌های مختلف درختی فضای سبز شهر اصفهان مقایسه شد. قابل ذکر است که در تمام مناطق ۱۶ گانه همه میزبان‌ها وجود نداشتند یا در برخی مناطق مورد نمونه برداری وجود نداشتند. قطر تنه در ارتفاع ۱/۵ متری 2 (DBH) نیز اندازه‌گیری و برای هر میزبان حداکثر در ۱۰ گروه دسته‌بندی شد. میانگین شدت آلودگی برای هر منطقه یا میزبان نیز تعیین شد. در نهایت رگرسیون خطی بین قطر و شدت آلودگی محاسبه شد تا تاثیر سن درخت بر شدت آلودگی تعیین شود (Rogers and Grant, 1990; Aurelian et al., 2006).

آنالیز آماری

تجزیه داده‌ها با نرم افزار S.A.S انجام شد و مقایسه میانگین‌ها با روش LSD صورت گرفت (SAS Institute, 1999).

331-TCTGGA TGT CCA AAA AAT CA- (هریک با غلظت $20 \mu\text{mol/l}$ ، $12/5$ میکرولیتر مسترمیکس (Taq¹ master mix تهیه شده از شرکت ویراژن) و $6/3$ میکرولیتر آب بود. انتخاب آغازگرها بر اساس مطالعات هربرت و همکاران (Hebert et al., 2004). صورت گرفت.

به منظور تکثیر بخشی از ناحیه سیتوکروم اکسیداز یک، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در سیکل حرارتی شامل: ۱ دقیقه واسرشته‌سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۴۰ چرخه شامل؛ ۴۵ ثانیه واسرشت در ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۴۵ ثانیه اتصال در ۵۲ درجه سانتی‌گراد، ۴۵ ثانیه گسترش در ۷۲ درجه سانتی‌گراد و در نهایت مرحله گسترش نهایی با ۵ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد. سپس برای مشاهده تکثیر قطعه مورد نظر، محصول واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز بر روی ژل آگارز ۱/۲ درصد الکتروفورز شد. شش نمونه از محصول واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز به همراه آغازگر رفت و برگشت برای توالی‌یابی به شرکت ماکروژن کره جنوبی فرستاده شد. سپس توالی نمونه‌ها با استفاده از نرم‌افزار MEGA 4 با توالی گونه‌های دیگر گرفته شده از بانک ژن مرتب و مقایسه شد.

تعیین شدت و درصد آلودگی گونه‌های مختلف درختی فضای سبز شهر اصفهان به پروانه زنبورمانند

جهت تعیین درصد و شدت آلودگی گونه‌های مختلف در هر یک از ۱۶ منطقه مورد مطالعه (۱۴ منطقه شهرداری شهر اصفهان، پردیس دانشگاه صنعتی اصفهان و پارک جنگلی ناژوان) چند خیابان یا پارک که نماینده منطقه مورد مطالعه بودند انتخاب شد. از هر خیابان یا پارک به فواصل ۳۰ تا ۵۰ متر تعدادی درخت بسته به فراوانی و تراکم آن‌ها در منطقه به طور تصادفی انتخاب و نمونه‌برداری انجام شد. نمونه‌برداری در نیمه دوم تیر ماه ۱۳۹۱ انجام شد. شدت و درصد آلودگی درختان مختلف در هر منطقه براساس علائم خسارت نظیر آلودگی فعال لاروی (فضولات با رنگ قهوه‌ای)، آلودگی‌های قبلی (فضولات سیاه رنگ) و تعداد پوسته شفیرگی (Aurelian et al., 2006; Rogers et al., 1999; Ellason et al., 2000) که از سطح زمین تا

مخلوطی از (Taq dNTP PCR buffer MgCl_2) 1

² Diameter at breast height (dbh)

نتایج

با الکتروفورز ۳ میکرولیتر از محصول PCR روی ژل ۱/۲ درصد آگاروز در بافر^۱ TBE مشخص شد ناحیه حدود ۷۰۹ جفت‌بازی سیتوکروم اکسیداز یک به خوبی با استفاده از جفت آغازگر طراحی شده (Hebert *et al.*, 2004) برای پروانه‌ها در واکنش زنجیره‌ای پلیمرز تکثیر شده است. با توالی‌یابی قطعه‌زنی و مقایسه آن با توالی‌های موجود در بانک ژن و همچنین توالی‌های موجود در سایت Sesiidae.net گونه‌های مورد نظر شناسایی شد، همچنین عکس و نتایج توالی نمونه‌ها برای دکتر فرانس پوهرینگر (کنراد، اتریش)^۲ ارسال و به تایید رسید. گونه خسارت‌زا به چنار و نارون *Synanthedon caucasica* (Gorbunov) و گونه خسارت‌زا به صنوبر، کبوده و بید *Sesia pimplaeformis* (Oberthür) (= *Eusphencia pimplaeformis*) تعیین شد (شکل ۱).

تعیین درصد آلودگی میزبان‌های مختلف آلوده به پروانه زنبورمانند در شرایط طبیعی

نتایج حاصل از مشاهده و بررسی ۴۷۶۸ اصله درخت شامل ۲۶۲۶ اصله درخت چنار، ۱۳۳۶ اصله درخت نارون و ۲۸۹ اصله درخت نارون چتری، ۵۷ اصله درخت بید، ۲۳۰ اصله درخت سپیدار، به ترتیب در جداول ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ ارائه شده است. نتایج نشان داد که ۵۳/۸٪ درختان چنار، ۶۵/۶٪ درختان نارون و ۴٪ درختان نارون چتری ۴۵/۲٪ درختان سپیدار و ۵۲/۶٪ درختان بید و در مجموع ۵۳/۲٪ کل درختان میزبان بررسی شده در سطح شهر اصفهان به پروانه‌های زنبورمانند آلوده بودند (شکل ۲). در این مطالعه با بررسی ۱۰۰ اصله درخت زبان گنجشک، ۱۰۰ اصله درخت توت و ۳۰ اصله درخت افاقا نیز هیچ گونه علائمی از آلودگی به پروانه زنبورمانند مشاهده نشد.

مقایسه شدت آلودگی میزبان‌های مختلف آلوده به پروانه زنبورمانند در شرایط طبیعی

گونه غالب درختان در نمونه‌برداری‌ها از ۱۶ منطقه مورد مطالعه درخت چنار بود. درصد آلودگی این میزبان از

حداکثر ۱۰۰٪ (در منطقه ۱۱) تا حداقل ۸/۷٪ (در منطقه ۶) متغیر بود. مقایسه میانگین شدت آلودگی در ۱۶ منطقه نشان داد که اغلب مناطق از این نظر با یکدیگر در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری دارند، به طوری که منطقه ۴ با میانگین شدت آلودگی ۷/۱ عدد و منطقه ۵ با میانگین ۱/۱ آلودگی فعال لاروی، قدیمی و پوسته سفیرگی به ازای هر ۱۰ سانتی متر از قطر تنه درخت به ترتیب حداکثر و حداقل شدت آلودگی درختان چنار را به خود اختصاص دادند. از بین درختان آلوده چنار در سطح شهر اصفهان ۳۳/۵٪ با آلودگی درجه ضعیف، ۳۳/۱٪ با آلودگی درجه به نسبت ضعیف، ۲۲/۲٪ با آلودگی درجه متوسط، ۹/۹٪ با آلودگی درجه شدید و ۲/۸٪ با آلودگی درجه بسیار شدید بودند (جدول ۱). نارون و سسک نسبت به نارون چتری فراوانی بیشتری را در مناطق نمونه‌برداری شده از فضای سبز اصفهان دارا بود. بیشترین درصد آلودگی نارون و سسک در منطقه ۱۶ با آلودگی ۱۰۰٪ و کمترین درصد آلودگی منطقه ۲ با آلودگی ۲۸/۰٪ مشاهده شد. مقایسه میانگین شدت آلودگی بین مناطق مختلف شهری در سطح ۵٪ نشان دهنده اختلاف آماری مناطق از نظر شدت آلودگی بود. درختان و سسک منطقه ۳ با میانگین شدت آلودگی ۸/۶ به ازای هر ۱۰ سانتی‌متر از قطر تنه درخت دارای بیشترین شدت آلودگی و درختان و سسک منطقه ۷ با میانگین شدت آلودگی ۱/۶ دارای کمترین شدت آلودگی بودند. از درختان نارون و سسک آلوده، ۴۴/۰٪ آلودگی با درجه به نسبت ضعیف بودند، بعد از آن به ترتیب ۳۶/۸٪، ۱۷/۷٪، ۵/۹٪ و ۱/۶٪ درختان نارون و سسک آلوده به ترتیب از درجه آلودگی ضعیف، متوسط، شدید و بسیار شدید برخوردار بودند (جدول ۲).

در مورد نارون چتری مناطق ۱۲، ۱۳، ۱۵ و ۱۶ اختلاف آماری با همدیگر نداشتند و منطقه ۵ با سایر مناطق از نظر آماری تفاوت معنی‌داری داشت. درختان نارون چتری منطقه ۵ با ۹۶٪ آلودگی و منطقه ۱۳ با ۳۵/۷٪ آلودگی به ترتیب حداکثر و حداقل درصد آلودگی را داشتند. درختان نارون چتری مناطق ۵ و ۱۳ نیز با میانگین شدت آلودگی ۸/۳ و

^۱ Tris- burate- EDTA

^۲ Franz Pühringer, Konrad, Austria, f.puehringer@sesiidae.net

درخت بیشترین شدت آلودگی را به خود اختصاص داده و در درجات بعدی نارون و سبک، چنار، سپیدار و بید قرار گرفتند. درختان بید نیز با میانگین شدت آلودگی ۱/۴ (آلودگی جدید، قدیم و پوسته شفیرگی) به ازای هر ۱۰ سانتی‌متر از قطر تنه از کمترین شدت آلودگی برخوردار بودند که البته با سه میزبان دیگر چنار، سپیدار و بید تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۶).

مقایسه مناطق مختلف شهر اصفهان از نظر شدت آلودگی درختان میزبان پروانه زنبورمانند

از نظر شدت آلودگی بین ۱۶ منطقه شهرداری اصفهان، اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($P < 0/001$). منطقه ۳ با میانگین شدت آلودگی ۶/۶ و منطقه ۱۴ با میانگین شدت آلودگی ۱/۲ به ازای هر ۱۰ سانتی‌متر از قطر تنه درخت به ترتیب از حداکثر و حداقل آلودگی برخوردار بودند. مناطق ۱۲ و ۱۳ با میانگین شدت آلودگی تقریباً یکسان، اختلاف معنی‌داری نداشتند. همچنین مناطق ۲، ۱۵ و ۱۶ نیز با میانگین شدت آلودگی تقریباً یکسان، با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند. اثر متقابل منطقه و میزبان نیز بر شدت آلودگی معنی‌دار بود ($P < 0/001$)، به این مفهوم که ترتیب میزبان‌های مختلف از نظر شدت آلودگی در مناطق مختلف متفاوت بود و همچنین ترتیب مناطق مختلف از نظر شدت آلودگی بستگی به میزبان داشت. بنابراین شدت آلودگی هر یک از میزبان‌ها در هر منطقه متفاوت می‌باشد و باید شدت آلودگی هر یک از میزبان‌ها را در هر یک از مناطق به طور جداگانه مورد بررسی قرار داد.

رابطه بین قطر تنه درخت با شدت آلودگی آن به

پروانه زنبورمانند

رابطه بین قطر و میزان آلودگی میزبان‌های مختلف با محاسبه رگرسیون خطی با فرمول $y = bx + a$ تعیین شد. در این رابطه b به منزله شیب خط، a عرض از مبدأ، x قطر تنه درخت و y شدت آلودگی به آفت (مجموع تعداد آلودگی-های فعال لاروی، تعداد آلودگی قدیم لاروی و تعداد پوسته شفیرگی روی تنه) می‌باشد. معادله حاصل در نارون چتری $y = 4.28x - 25.45$ ، در نارون و سبک $y = 5.56x - 6.43$ ، در چنار $y = 4.01x - 3.28$ ، در بید $y = -5.52x + 1.92$

۲/۲۲ به ازای هر ۱۰ سانتی‌متر از قطر تنه درخت به ترتیب حداکثر و حداقل شدت آلودگی درختان نارون چتری به خود اختصاص دادند (جدول ۳). در مناطق ۱۲ و ۱۶ درجه آلودگی درختان نارون چتری به‌طور کلی به‌نسبت ضعیف و منطقه ۱۳ با درجه آلودگی ضعیف برآورد شد. در مجموع آلودگی بیشتر درختان نارون چتری با درجه به‌نسبت ضعیف بود. (۴۷/۳٪).

درصد آلودگی درختان بید در فضای سبز اصفهان از حداکثر ۵۹/۱٪ (در منطقه ۷) تا حداقل ۴۵٪ (در منطقه ۴) متغیر بود (جدول ۴). نتایج حاصل از مطالعه میانگین شدت آلودگی مشخص کرد که بین مناطق مختلف در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. درختان بید منطقه ۴ با میانگین شدت آلودگی ۱/۵، حداکثر شدت آلودگی و درختان بید منطقه ۱۴ کمترین مقدار شدت آلودگی با ۱/۱، به ازای هر ۱۰ سانتی‌متر از قطر تنه درخت را دارا بودند. از درختان آلوده بید ۸۳/۳٪ با درجه آلودگی ضعیف و ۱۶/۷٪ با درجه آلودگی به‌نسبت ضعیف بودند. در منطقه ۱۴ نیز ۱۰۰٪ درختان آلوده درجه آلودگی ضعیف داشتند.

آلودگی درختان سپیدار به پروانه زنبورمانند بین حداکثر آلودگی ۷۶٪ در منطقه ۳ و حداقل آلودگی ۳۴٪ در منطقه ۶ متغیر بود. مناطق ۶ و ۱۵ به ترتیب با ۴۹٪ و ۶۶/۷٪ دارای درجه آلودگی ضعیف و منطقه ۳ با ۵۵/۲٪ با آلودگی درجه نسبتاً ضعیف بودند. در کل ۴۳/۲٪ از درختان آلوده سپیدار دارای آلودگی ضعیف و به‌نسبت ضعیف بودند. درختان سپیدار منطقه ۳ با میانگین شدت آلودگی ۲/۹ و منطقه ۱۵ با شدت آلودگی ۱/۹ به ازای هر ۱۰ سانتی‌متر از قطر تنه درخت به ترتیب حداکثر و حداقل شدت آلودگی را به خود اختصاص داده‌اند و همچنین بین مناطق اختلاف آماری مشاهده نشد (جدول ۵).

از نظر شدت آلودگی بین گونه‌های مختلف درختی در فضای سبز شهر اصفهان، اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۶). مقایسه میانگین شدت آلودگی بین میزبان‌های مختلف پروانه‌های زنبورمانند (جدول ۶) نشان داد که درختان نارون چتری با میانگین شدت آلودگی ۴/۲ (آلودگی جدید، قدیم و پوسته شفیرگی) به ازای هر ۱۰ سانتی‌متر از قطر تنه

سوراخ‌های خروجی روی بید (*Salix spp*) و صنوبر (*Populus spp.*) به این گونه نسبت داده شده است (Kallies and Spatenka, 2003). در این تحقیق مشخص شد گونه *S. caucasica* روی نارون و چنار و گونه *S. pimplaeformis* روی بید و صنوبر تغذیه داشته و به-کمک توالی یابی ژن سیتوکروم اکسیداز یک شناسایی شده-اند.

بررسی و هم‌ردیف‌سازی توالی‌های DNA تکثیر شده از لاروها و حشرات کامل جمع‌آوری شده از میزبان‌های مختلف نشان داد که تمام نمونه‌های *S. caucasica* توالی کاملاً یکسان و نمونه‌های *S. pimplaeformis* تنها در یک نوکلئوتید تفاوت دارند. به نظر می‌رسد اختلاف ژنتیکی بین نمونه‌های هر گونه (جمع‌آوری شده از میزبان‌های مختلف) وجود ندارد (شکل ۲ A,B). اگر چه تعداد نمونه‌های توالی-یابی شده روی هر گونه میزبان اندک می‌باشد ولی نتایج نشان می‌دهد که گونه‌های مورد بررسی در میزبان‌های مختلف از نظر این ژن تفاوت چندانی ندارند.

در این پژوهش برای تعیین درصد و شدت آلودگی پروانه‌های زنبور مانند روی گونه گیاهی نارون و سبک، چنار، نارون چتری، بید و سپیدار از عواملی شامل آلودگی فعال لاروی، آلودگی قدیمی و پوسته‌های شفیرگی استفاده شد. بر این اساس، درصد آلودگی میزبان‌ها به ترتیب ۶۵/۶٪، ۵۳/۸٪، ۶۴/۴٪، ۵۲/۶٪ و ۴۵/۲٪ برآورد شد. نتایج تحقیقات قبلی در اصفهان نشان داده بود که ۹۵/۷ درصد درختان چنار بازدید شده آلوده به آفت پروانه زنبورمانند بوده‌اند (Emami et al., 2010)، در حالی که با مطالعه گسترده‌تر در تحقیق حاضر درصد درختان چنار آلوده به این آفت ۵۳/۸ مشخص شد. برای تعیین درصد شدت آلودگی بعضی از گونه‌های پروانه زنبورمانند پیش از این در دنیا نیز از آلودگی فعال لاروی و تعداد پوسته‌های شفیرگی استفاده شده بود (Aurelian et al., 2006; Frank et al., 2011) با توجه به این که ارتباط منطقی بین میانگین آلودگی درختان مختلف و

و در سپیدار $y = 2.09x + 1.78$ محاسبه شد (جدول ۷). با این حال ضریب همبستگی (ریشه دوم R-Square) تنها در نارون چتری و بید معنی‌داری بود (جدول ۷). بیشترین همبستگی بین قطر تنه درخت و میزان آلودگی در نارون چتری ($r = 0.97$) و کمترین همبستگی در سپیدار ($r = 0.1$) مشاهده شد. بنابراین نتایج تجزیه رگرسیون نشان می‌دهد که تاثیر افزایش قطر تنه درخت یعنی مسن‌تر شدن درخت در شدت آلودگی آن به نوع میزبان گیاهی بستگی دارد.

بحث

گونه *Synanthedon caucasica* برای اولین بار در دنیا توسط Gorbunov (1986) از قفقاز جنوبی^۱ توصیف و گزارش شده است. در ایران این گونه برای اولین بار توسط Spatenka (1999) از شاه کوه مازندران گزارش شد (Kallies and Spatenka, 2003). در سال ۱۳۸۹ مطالعه‌ی روی پروانه زنبورمانند خسارت‌زا روی درختان چنار نشان داد که گونه خسارت‌زا *S. caucasica* نام دارد (Emami et al., 2010). روی چنار معمولی (*Platanus orientalis*) گونه *S. codeti* در کشورهای فرانسه، ایتالیا، پرتغال و شمال آفریقا گزارش شده ولی این گونه روی چنار در ایران تا به حال گزارش نشده است (Lastuvka and Lastuvka, 2001). گونه‌های *S. spuleri* (Fuchs) و *S. vespiformis* (Edward newman) در مناطقی از فرانسه تا ترکیه و گرجستان روی نارون گزارش شده است. همچنین گونه *S. caucasica* توسط Gorbunov (1999) روی نارون گزارش شده است. گونه *Sesia pimplaeformis* پیش از این در یونان، مقدونیه، جنوب بلغارستان، ترکیه، ایران، تمام قفقاز و عراق روی بید (*Salix spp*) و صنوبر (*Populus spp*) گزارش شده است (Garrevoet and Garrevoet, 2005). این گونه از ایران نیز از دورود در لرستان و نیز کرمان گزارش شده است، همچنین در اصفهان نیز در دلیجان و کوه‌های کرکس (جمهوری آذربایجان، ارمنستان،^۱ Transcaucasus) گرجستان، بخش کوچکی از شمال باختری ایران و شمال خاوری ترکیه)

۱٪ تا ۶۰٪ تعیین شده است (Rogers et al., 1990). پروانه زنبورمانند *P. tabaniformis* باعث خسارت و از بین رفتن ده‌ها هزار هکتار از درختان سپیدار (*Populus spp.*) در دنیا شده است (Lieutier et al., 2004). مطالعات انجام شده نشان داده که ارتباطی بین قطر و میزان آلودگی وجود نداشته (Solomon, 1991; Frank et al., 2011) که در این پژوهش نیز ارتباط بین شدت آلودگی و قطر درخت در بین میزبان‌ها تفاوت معنی‌داری نشان نداده است. به طور کلی تاثیر افزایش قطر تنه درخت یعنی مسن‌تر شدن درخت در شدت آلودگی آن به میزبان گیاهی بستگی دارد.

سیاسگزاری

این تحقیق با حمایت مالی شهرداری اصفهان به انجام رسیده است که بدین وسیله تشکر و قدردانی می‌گردد. همچنین از سازمان پارک‌ها و فضای سبز اصفهان به ویژه از آقای مهندس میرهلی به خاطر کمک در اجرای طرح سیاسگزاری می‌شود.

موقعیت جغرافیایی مناطق مختلف شهری دیده نشد (به-عنوان مثال، مجاورت جغرافیایی مناطق ۵ و ۶ شهرداری اصفهان و تفاوت شدید آن‌ها از نظر شدت آلودگی) به نظر می‌رسد تفاوت‌های جزئی شرایط اقلیمی مناطق مختلف بر درصد و شدت آلودگی درختان به این آفت تاثیرانندی دارد و احتمالاً سایر شرایط نظیر سن درخت، آبیاری، کوددهی، زمان و دفعات سم‌پاشی و در مجموع مدیریت نگهداری درختان بر درصد و شدت آلودگی آن‌ها در مناطق مختلف می‌تواند تاثیر بیشتری داشته باشد. در این بررسی با بازدید از ۱۰۰ اصله درخت زبان گنجشک، هیچ گونه آلودگی به پروانه‌های زنبورمانند دیده نشد، درحالی‌که پروانه زنبورمانند *Podosesia syringae* یکی از آفات مهم درختان زبان گنجشک در دنیا می‌باشد که میزان خسارت آن در کانادا ۵۰٪ و در شمال شرق اوهایو در هر مرحله سرشاخه‌زنی در هر هکتار ۵۰۰۰ دلار برآورد شده است (Aurelian et al., 2006; Solomon, 1991). خسارت گونه *S. scitula* روی درختان یکساله بلوط ۸۱/۵٪ برآورد شده است (Ellason and Potter, 2000) در باغ‌های سیب اختلاف سطح میزان آلودگی درختان سیب به *S. scitula* وابسته به یک سری عوامل از جمله اختصاصی بودن کلونی یا واریته گیاه بوده است. در یک بررسی از ۳۳ باغ در غرب نیویورک، تقریباً یک سوم درختان روی پایه Maling و Maling merton، آلودگی به *S. scitula* از صفر تا ۱۰۰٪ را نشان دادند. در یک بررسی از ۲۹ باغ با سنین متفاوت، پایه‌های متفاوت و ترکیب واریته‌ها در نیویورک مشخص شده که بسته به نوع پایه و واریته، میزان آلودگی نیز متفاوت می‌باشد. مطالعه ای که در سال‌های ۲۰۰۲ تا ۲۰۰۴ در ویرجینیا انجام شد نشان داد که واریته گیاه، پایه و مدیریت زراعی به‌طور معنی‌داری روی آلودگی به *S. scitula* گیاهان تاثیر گذار می‌باشد (Frank et al., 2011; Bergh et al., 2009) همچنین میزان خسارت *S. scitula* روی گیاه زغال اخته (*Cronus florida*) از

A:

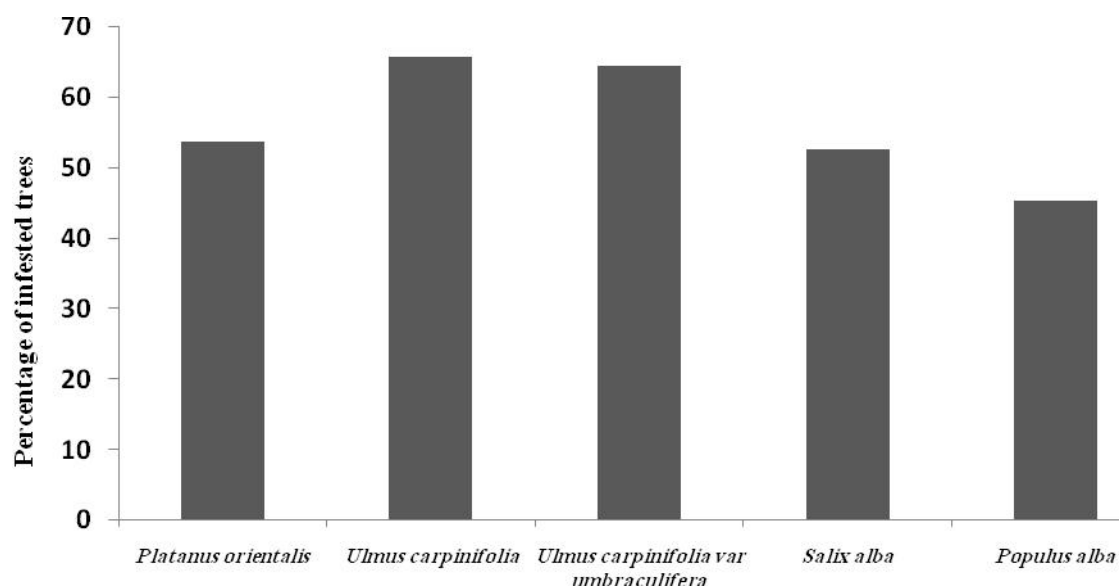
CAAATTATTTTTATTTTTGGATTTGATCTGGTATAGTAGGTA CTTCTCTTAGTCTTTTAAT
 CCGAGCTGAATTAGGATCCCCAGGCTCTTTAATTGGAGATGATCAAATTTATAATACCAT
 TGTAACAGCTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTATAGTTATACCTATTATAAATTGGAGGA
 TTTGGAAACTGATTAGTTCCTTTAATATTAGGAGCCCCTGATATAGCATTCCCCCGTATAA
 ATAATATAAGATTTTGATTGTTACCTCCATCATTAACTCTTTTAATTTCAAGTAGAATCGT
 AGAAAATGGGGCAGGTACAGGATGAACAGTATACCCCCCTCTCATCAAATATTGCC
 ATGGAGGAGGTTCTGTAGATTTAGCTATTTTTTCTCTTCATTTAGCTGGGGTTTCATCTAT
 TTTAGTCTTTTGATCAAATACCATTATTTGTTTGAGCCGTAGGTATTACAGCCTTACTTCT
 TCTATTATCTTTACCAGTATTAGCAGGAGCCACTACTATACTTCTTACAGATCGTAATTA
 AATACATCTTTTTTTGATCCTGCAGGAGGAGGGGATCCTATTTTATATCAACATTTATTTT
 GATTTTTTGGACATCCAGAAAATTA

B:

CAAATTATTTTTATTTTTGGATTTGATCTGGTATAGTAGGTA CTTCTCTTAGTCTTTTAAT
 CGAGCTGAATTAGGATCCCCAGGCTCTTTAATTGGAGATGATCAAATTTATAATACCATT
 GTACTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTATAGTTATACCTATTATAAATTGGAGGATTTGG
 AAGATTGTTCCCTTTAATATTAGGAGCCCCTGATATAGCATTCCCCCGTATAAATAATATA
 AGATTTGATTTACCTCCATCATTAACTCTTTTAATTTCAAGTAGAATCGTAGAAAATGGG
 GCAGGTACAGGGAACAGTATACCCCCCTCTCATCAAATATTGCCCATGGAGGAGGTTTC
 TGTAGATTTAGCTTTTTTTCTCTTCATTTAGCTGGGGTTTCATCTATTTTAGGAGCAGTAA
 ATTTTACTACTACAATTAATATACGCCAAAAAATATATCTTTTGATCAAATACCATTATT
 TGTTTGAGCCGTAGGTATTGCCTTACTTCTTCTATTATCTTTACCAGTATTAGCAGGAGCC
 ATTACTATACTTCTTACAGATAATTTAAATACATCTTTTTTTGATCCTGCAGGAGGAGGGG
 ATCCTATTTTATATCAACATTTATTTGATTTTTTTGGACATCCAGAAAATTA

شکل ۱- توالی نوکلئوتیدی بخشی از ژن سیتوکروم اکسیداز یک مربوط به گونه *Synanthedon caucasica* بر روی میزبان‌های چنار، نارون و سسک و نارون چتری. (A) گونه *Sesia pimplaeformis* بر روی میزبان‌های سپیدار، کیوده و بید (B) نوکلئوتید پررنگ نشان دهنده نوکلئوتید متفاوت بین دو میزبان سپیدار و بید با کیوده می باشد.

Figure 1. Sequence of a part of cytochrome oxidase I in *Synanthedon caucasica* on the *Platanus orientalis*, *Ulmus carpinifolia* and *Ulmus carpinifolia* var *umbraculifera* (A) and *Sesia pimplaeformis* on *Populus alba*, *P. alba* cv. *Kabudeh Bumi*, *Salix alba* (B). Highlighted nucleotide indicates the nucleotide differences between *Populus alba* and *Salix alba* with *P. alba* cv. *Kabudeh Bumi*



شکل ۲- درصد آلودگی به پروانه زنبورمانند در درختان مختلف از کل درختان آلوده بررسی شده در فضای سبز شهر اصفهان
 Figure 2. The percentage of infested trees by clearwing moths among the total infested trees sampled in Isfahan landscapes

جدول ۱- درصد و شدت آلودگی چنار به پروانه زنبور مانند *Synanthedon caucasica* در ۱۶ منطقه اصفهان

Table 1- Infestation percentage and intensity of plane trees to *Synanthedon caucasica* in 16 regions of Isfahan

Inf. deg. ⁽¹⁾	Regions																Mean ⁽³⁾
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	
1	14.7 ⁽²⁾	50	26.6	20.6	43.3	89.5	52.4	-	16.9	46.2	10.9	38.1	50	39.5	79.7	64.3	33.5
2	37.3	37	36.8	25.3	32.1	10.5	47.6	-	37.3	32.7	28.3	33.3	12.5	48.8	15.2	21.4	33.1
3	35.6	13	20.2	30.9	12.7	0	0	-	39	13.5	39.1	23.8	37.5	11.6	5.1	14.3	22.2
4	11.3	0	12.3	17	7.5	0	0	-	6.8	5.8	19.6	4.8	0	0	0	0	9.9
5	1.1	0	4	6.2	3	0	0	-	0	1.9	2.2	0	0	0	0	0	2.8
No of trees	220	103	567	250	210	218	111	-	64	100	46	40	40	67	500	50	
% inf. trees	80.5	52.4	82.9	77.6	63.8	8.7	18.9	-	92.2	52	100	52.5	20	64.2	15.8	28	53.78
Mean inf. Int. ⁽⁴⁾	5.7 ^c	2.4 ^{hi}	5.9 ^{bc}	7.1 ^a	4.3 ^{de}	1.1 ^g	1.8 ^{ig}	-	5.2 ^{cd}	3.4 ^{fg}	6.9 ^b	3.2 ^{gh}	4.3 ^{ef}	2.6 ^{ghi}	1.5 ^g	2.6 ^{ghi}	

⁽¹⁾ درجه آلودگی ۱=آلودگی ضعیف ($0.001 \leq n < 2$)؛ درجه آلودگی ۲=آلودگی نسبتاً ضعیف ($2 \leq n < 5$)؛ درجه آلودگی ۳=آلودگی متوسط ($5 \leq n < 10$)؛ درجه آلودگی ۴=آلودگی شدید ($10 \leq n < 20$)؛ درجه آلودگی ۵=آلودگی بسیار شدید ($n > 20$)؛ $n =$ مجموع آلودگی های فعال لاروی، آلودگی قدیم و پوسته شفیرگی روی تنه به ازای هر ۱۰ سانتی متر از قطر تنه درخت.

⁽²⁾ محاسبه درصد درختان آلوده دارای درجه آلودگی ۱ تا ۵ تنها بر مبنای درختان آلوده صورت گرفت نه بر اساس کل درختان نمونه برداری شده.

⁽³⁾ میانگین آلودگی ۱۶ منطقه با در نظر گرفتن تعداد کل درختان آلوده در هر منطقه صورت گرفت.

⁽⁴⁾ مجموع آلودگی فعال لاروی، آلودگی قدیم و پوسته شفیرگی به ازای هر ۱۰ سانتی متر از قطر تنه درخت برای محاسبه میانگین شدت آلودگی در نظر گرفته شد. میانگین هایی که دارای حروف مشترک هستند، از نظر آماری در سطح ۵٪ با آزمون LSD تفاوت معنی دار ندارند.

⁽¹⁾ Infestation degrees: 1 (weak infestation) if $0.001 \leq n < 2$, 2 (relatively weak infestation) if $2 \leq n < 5$, 3 (medium infestation) if $5 \leq n < 10$, 4 (severe infestation) if $10 \leq n < 20$, 5 (highly severe infestation) if $20 \leq n$. $n =$ the total number of pupal exuviae, active larval holes and inactive larval holes per 10 centimeters of trunk diameter.

⁽²⁾ Infestation percentage of trees with infestation degrees from 1 to 5 was calculated based on the infested trees not total sampled trees.

⁽³⁾ Mean of infestation percentage of 16 regions was calculated based on the infested trees divided by the total sampled trees

⁽⁴⁾ Mean of infestation intensity, the total number of pupal exuviae, active larval holes and inactive larval holes per 10 centimeters of trunk diameter was used to calculate the infestation intensity. Means followed by the same letter are not significantly different ($p < 0.05$) according to LSD test

جدول ۲ - درصد و شدت آلودگی درختان نارون و سسک به پروانه زنبورمانند *Synanthedon caucasica* در ۱۶ منطقه شهرداری اصفهان

Table 2. Infestation percentage and intensity of elm trees to *Synanthedon caucasica* in 16 regions of Isfahan

Inf. deg. ⁽¹⁾	Regions																Mean ⁽³⁾
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	
1	31.3 ⁽²⁾	62.8	22	27.2	29.1	51.4	75	36.8	38.1	20.2	25.7	16.2	20.4	-	57.7	40	36.8
2	25	30.3	29.4	34.6	25.8	28.6	22.7	51.3	47.6	35.1	62.9	67.6	39.7	-	34.6	30	41
3	37.5	6.7	20.2	25.9	35.5	17.1	2.3	10.5	13.1	30.7	8.6	13.5	22.4	-	7.7	30	17.7
4	6.3	0.8	18.3	9.9	6.5	0	0	1.3	1.2	13.2	2.9	2.7	1.7	-	0	0	5.9
5	0	0	10.1	2.5	3.2	2.9	0	0	0	0.9	0	0	0	-	0	0	1.6
No of trees	19	193	123	129	40	79	80	150	118	120	45	80	100	-	50	10	
% inf. trees	84.2	28	88.6	6.8	77.5	44.3	55	50.7	71.2	95	77.8	46.3	58	-	52	100	65.6
Mean inf. Int. ⁽⁴⁾	4.8 ^c	2.1 ^f	8.6 ^a	5.2 ^{bc}	5.7 ^b	3.1 ^d	1.6 ^f	3 ^{de}	2.9 ^{de}	5.7 ^b	3.3 ^d	3.7 ^d	3.6 ^d	-	2.3 ^{ef}	3.3 ^d	

1, 2, 3, 4 refer to table 1 explanations

(۱)، (۲)، (۳) و (۴): به زیر نویس جدول ۱ رجوع شود

جدول ۳- درصد و شدت آلودگی درختان نارون چتری به پروانه زنبور مانند *Synanthedon caucasica* در ۱۶ منطقه شهرداری اصفهان

Table 3. Infestation percentage and intensity of elm trees to *Synanthedon caucasica* in 16 regions of Isfahan

Inf. deg. ⁽¹⁾	Regions																Mean ⁽³⁾
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	
1	-	-	-	-	33.3 ⁽²⁾	-	-	-	-	-	-	20.3	60	-	50	42.5	36.8
2	-	-	-	-	16.7	-	-	-	-	-	-	64.4	40	-	27.7	48.8	47.3
3	-	-	-	-	12.5	-	-	-	-	-	-	13.6	0	-	11.1	8.8	10.8
4	-	-	-	-	33.3	-	-	-	-	-	-	1.7	0	-	11.1	0	5.9
5	-	-	-	-	4.2	-	-	-	-	-	-	0	0	-	0	0	0.5
No of trees	-	-	-	-	25	-	-	-	-	-	-	110	14	-	50	90	
% inf. trees	-	-	-	-	96	-	-	-	-	-	-	53.6	35.7	-	36	88.9	64.4
Mean inf. Int. ⁽⁴⁾	-	-	-	-	8.3 ^a	-	-	-	-	-	-	3.5 ^b	2.2 ^c	-	3.3 ^b	2.6 ^{bc}	

1, 2, 3, 4 refer to table 1 explanations

(۱)، (۲)، (۳) و (۴): به زیر نویس جدول ۱ رجوع شود

جدول ۴- درصد و شدت آلودگی درختان بید به پروانه زنبور مانند *Sesia pimplaeformis* در ۱۶ منطقه شهرداری اصفهان

Table 4. Infestation percentage and intensity of willow trees to *Sesia pimplaeformis* in 16 regions of Isfahan

Inf. deg. ⁽¹⁾	Regions																Mean ⁽³⁾
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	
1	-	-	-	66.7 ⁽²⁾	-	-	84.6	-	-	-	-	-	-	100	-	-	83.3
2	-	-	-	33.3	-	-	15.4	-	-	-	-	-	-	0	-	-	16.7
3	-	-	-	0	-	-	0	-	-	-	-	-	-	0	-	-	0
4	-	-	-	0	-	-	0	-	-	-	-	-	-	0	-	-	0
5	-	-	-	0	-	-	0	-	-	-	-	-	-	0	-	-	0
No of trees	-	-	-	20	-	-	22	-	-	-	-	-	-	15	-	-	
% inf. trees	-	-	-	45	-	-	59.1	-	-	-	-	-	-	53.3	-	-	52.6
Mean inf. Int. ⁽⁴⁾	-	-	-	1.5 ^a	-	-	1.4 ^a	-	-	-	-	-	-	1.1 ^a	-	-	

1, 2, 3, 4 refer to table 1 explanations

(۱)، (۲)، (۳) و (۴): به زیر نویس جدول ۱ رجوع شود

جدول ۵- درصد و شدت آلودگی درختان سپیدار به پروانه زنبور مانند *Sesia pimplaeformis* در ۱۶ منطقه شهرداری اصفهان

Table 5. Infestation percentage and intensity of poplar trees to *Sesia pimplaeformis* in 16 regions of Isfahan

Inf. deg. ⁽¹⁾	Regions																Mean ⁽³⁾
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	
1	-	-	26.3	-	-	49	-	-	-	-	-	-	-	-	66.6	-	43.2
2	-	-	55.2	-	-	41.1	-	-	-	-	-	-	-	-	20	-	43.2
3	-	-	18.4	-	-	9.8	-	-	-	-	-	-	-	-	13.3	-	13.4
4	-	-	0	-	-	0	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	0
5	-	-	0	-	-	0	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	0
No of trees	-	-	50	-	-	150	-	-	-	-	-	-	-	-	30	-	-
% inf. trees	-	-	76	-	-	34	-	-	-	-	-	-	-	-	50	-	45.2
Mean inf. Int. ⁽⁴⁾	-	-	2.9 ^a	-	-	2.5 ^a	-	-	-	-	-	-	-	-	1.9 ^a	-	-

1, 2, 3, 4 refer to table 1 explanations

(۱)، (۲)، (۳) و (۴): به زیر نویس جدول ۱ رجوع شود

جدول ۶- مقایسه میانگین شدت آلودگی میزبان‌های مختلف پروانه زنبور مانند در اصفهان

Table 7. comparison mean intensity of the clearwing moths on different hosts in Isfahan

Host	<i>Platanus orientalis</i>	<i>Ulmus carpinifolia</i>	<i>Ulmus carpinifolia var umbraculifera</i>	<i>Salix alba</i>	<i>Populus alba</i>
میانگین شدت آلودگی*	3.60 ^{ab}	3.68 ^{ab}	4.19 ^a	1.36 ^b	2.59 ^{ab}

*: میانگین‌های که دارای حروف مشترک می‌باشند در سطح ۵٪ با آزمون LSD تفاوت معنی‌داری ندارند

*Means followed by the same letter are not significantly different ($p < 0.05$) according to LSD test

جدول ۷- رگرسیون خطی بین قطر تنه درخت و میزان آلودگی آن به پروانه زنبورمانند

Table 9. Linear regression between the tree diameter and the infestation intensity of the clearwing moths

Host	b±SE	a±SE	R-Square	f value	Mean No. were used
<i>Platanus orientalis</i>	4.009±0.30	-3.28±.50	0.17	<0.11	14
<i>Ulmus carpinifolia</i>	5.56±0.36	-6.43±0.71	0.23	<0.06	14
<i>Ulmus carpinifolia</i> <i>var umbraculifera</i>	4.28±0.26	-25.45±1.92	0.94	<0.005	4
<i>Salix alba</i>	- 5.52±0.39	1.92±1.08	0.77	<0.002	5
<i>Populus alba</i>	2.099±0.1173	1.78±0.045	0.016	< 0.7	10

References

- Aurelian, V. M., Lanthier, M and Judd, G. J. R.** 2008. *Podosesia syringae* (Lepidoptera: Sesiidae): a new Clearwing moth record for British Columbia. **Journal of the Entomological Society of British Columbia** 105: 111-112.
- Behdad, E.** 1988. Pests and diseases of forest trees and shrubs and ornamental plants of Iran. Neshat Isfahan. (In Farsi).
- Bergh, J. C., Leskey, T. C., Walgenbach., J. F. Klingeman, W. E., Kain, D. P and Zhanc, A.** 2009. Dogwood Borer (Lepidoptera: Sesiidae) Abundance and seasonal flight activity in apple orchards, urban landscapes, and woodlands in five eastern states. **Environmental Entomology** 38: 530-538.
- Ellason, A. E and Potter D.** 2000. Dogwood Borer (Lepidoptera: Sesiidae) infestation of horned oakgalls. **Economic Entomology** 93: 757-762.
- Emami, M. S., Karimzadeh, J and Kallies, A.** 2010. *Synanthedon caucasica* (Lepidoptera: Sesiidae), a new pest on plane trees in Isfahan, Iran. **Plant Protection Journal** 2(4): 313-318. (In Farsi).
- Frank, D. L., Brewster, C. C., Leskey, T. C and Bergh, J. C.** 2011. Factors influencing the temporal and spatial patterns of dogwood borer (Lepidoptera: Sesiidae) infestation in newly planted apple orchards. **Environmental Entomology** 40: 173-183.
- Garrevoet, T and Garrevoet, W.** 2005. A Contribution to the knowledge of the Sesiidae of Turkey (Lepidoptera). **Turkish Journal of Zoology** 29: 27-38.
- Georgiev, G.** 2011. Notes on the biology and ecology of the parasitoids of the poplar clearwing moth, *Paranthrene tabaniformis* (Rott.) (Lep., Sesiidae) in Bulgaria *Apanteles evonymellae* (Bouche, 1834) (Hym., Braconidae). **Journal of Applied Entomology** 125: 141-145.
- Hansen, A. Klingeman, W. E., Moulton, J. K., Oliver, J. B., Windham, M. T., Zhang, A and Trigiano, R. N.** 2012. Molecular identification of synanthedonini members (Lepidoptera: Sesiidae) using cytochrome oxidase I. **Annals of the Entomological Society of America** 105 (4): 520-528.
- Hebert, P.D.N., Penton, E. H., Burns, J. M., Janzen, D. H and Hallwachs, W.** 2004. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 101: pp.14812- 14817.
- Hekmati, J.** 2002. Garden design and landscaping. Farhange Jame Publication. pp. 306. (In Farsi).
- Kallies, A and Spatenka, K.** 2003. The clearwing moths of Iran (Lepidoptera: Sesiidae), 1st part. **Linneana Belgica** 19: 81-94.
- Karimpor, Y., Y. Fathipor. A. A. Talebi and Moharamipour, S.** 2007. Biology of *Chamaesphecia schizoceriformis* (Lep: Sesiidae) a biocontrol agent of *Euphorbia boissirian* (Euphorbiales: Euphorbiaceae) in north west of Iran. **Entomological Society of Iran** 26: 35-45.
- Lastuvka, Z. and Lastuvka, A.** 2001. The Sesiidae of Europ. Apollo books, Stenstrup.

- Lieutier, F., Day, K. R., Battisti, A., Grégoire, J. C. and Evans, H. F. 2004. Bark and wood boring insects in living trees in Europe, a synthesis. Springer, pp. 596.
- Mazaheri, A., Khajehali, J. and Hatami, B. 2011. Oviposition preference and larval performance of *Aeolesthes sarta* (Coleoptera: Cerambycidae) in six hardwood tree species. **Journal of Pest Science** 84:355–361.
- McKern, J. A. and Szalanski, A. L. 2007. Molecular diagnostics of economically important clearwing moths (Lepidoptera: Sesiidae). **Florida Entomologist** 90: 475-479.
- McKern, J. A. and Szalanski, A. L. 2008. Genetic Variation of the Lesser Peach Tree Borer, *Synanthedon pictipes* (Lepidoptera: Sesiidae) in Arkansas. **Agricultural and Urban Entomology** 25: 25-35.
- McKern, J. A., Szalanski, A. L., Johnson, D. T and Dowling, A. P. G. 2008. Molecular Phylogeny of Sesiidae (Lepidoptera) inferred from mitochondrial DNA sequences. **Agricultural and Urban Entomology** 25: 165-177.
- Mury, M. G. and Tampion, W. F. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. **Nucleic Acid Research** 8: 4321- 4325.
- Puhringer, F. and Kallies, A. 2004. Provisional checklist of the Sesiidae of the world (Lepidoptera: Ditrysia). **Mitteilungen der Entomologischen Arbeitsgemeinschaft Salzkammergut** 4:1–85.
- Rogers, E. L. and Grant, F. J. 1990. Infestation levels of dogwood borer (Lepidoptera: Sesiidae) larvae on dogwood trees in selected habitats in Tennessee. **Journal of Entomological Science** 25: 481-485.
- SAS Institute. 2003. The SAS system for Windows. Version 9.1. SAS Institute, Cary, NC, USA.
- Solomon, J. D. 1991. Biology of an ash borer, in green ash in Mississippi. **Annals of the Entomological Society of America** 68: 325- 328.

Molecular identification of clearwing moth species on landscape trees in Isfahan and determination of their infestation intensity on different tree species

B. Zarifnia¹, J. Khajehali^{2*}, A. Mazaheri³ and M. R. Sabzalian⁴

1 and 2. Msc. student and Assistant Professor of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran. 3. Senior Researcher, Isfahan Parks and Green Space Organization. 4. Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan

(Received: August 14, 2013- Accepted: November 11, 2013)

Abstract

The Clearwing moths (Lep.: Sesiidae) are important and destructive pests of fruitful and non-fruit bearing trees in different countries of the world. Considering the high damage of sesiid moths in Isfahan landscape, the infestation percentage and intensity were studied on 4768 trees of different species in 14 Isfahan municipality regions, Isfahan University of Technology campus and Nazhvan parks as 15th and 16th regions, respectively. To identify sesiid moth species, DNA was extracted from larvae and adults. Polymerase Chain Reaction (PCR) was used to amplify a 709-bp region of the mitochondrial DNA cytochrome oxidase I and samples were sequenced. Results of COI sequences revealed that the moth *Synanthedon caucasica* (Gorbunov) is the damaging species on *Platanus orientalis*, *Ulmus carpinifolia* and *U. carpinifolia var umbraculifera* and the sesiid moth *Sesia pimplaeformis* (Oberthür) (= *Eusphecia pimplaeformis*) is harmful to *Salix alba* and *Populus alba*. Percentage of infestation was calculated based on the number of infested trees divided by total trees and intensity of infestation was determined based on the total number of pupal exuviae, active larval holes and inactive larval holes per 10 centimeters of trunk diameter. The combined analysis was performed in a completely randomized design with 10 replicates. The regions and hosts were considered as main and secondary factors, respectively. Using linear regression between tree diameter and infestation rate, the effect of trunk diameter on the infestation rate was determined. Results showed that 53.8 % of *Platanus orientalis*, 65.6% of *U. carpinifolia*, 64.4% of *U. carpinifolia var umbraculifera*, 52.6% of *S. alba* and 45.2% of *P. alba* and totally 53.2% of all trees were infested with sesiid larvae. The highest infestation intensity (4.2) was observed on *U. carpinifolia var umbraculifera*. The species *U. carpinifolia*, *Platanus orientalis*, *salix alba* and *P. alba* had lower infestation intensity. No sesiid damage symptoms were observed on *Morus* spp., *Rubinia pseudoacacia* and *Fraxinus rotundifolia* subsp. *persica*. On all host tree species, the correlation between trunk diameter and infestation rate was positive but a significant correlation ($p < 0.05$) was only occurred in *U. carpinifolia var umbraculifera* and *salix alba*.

Keywords: Sesiidae, Cytochrome oxidase I, Infestation percentage and intensity, Ornamental pests.

*Corresponding author: khajeali@cc.iut.ac.ir