Investigation of anatomical changes induced in *Fraxinus rotundifolia* leaflets by Psyllopsis (*Psyllopsis fraxini*) infection

Elham Mohajel Kazemi[1*], Fatemeh Alinejad[1], Hanieh Mohajjel Shoja[1]
[1.] Department of Plant Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

Abstract
Pest attack is able to damage plant cell structures and also affects the growth and plant differentiation. The Psyllopsis is one of the plant-attacking pests which feeds on plant sap and causes the leaf morphological deformation and induces the formation of galls. The aim of this study is investigation of the anatomical and morphological changes produced in leaflets of pest-infected plants (*Fraxinus rotundifolia*) in different stages of pest infection. The light and fluorescent microscopic analysis was carried out from infected and non-infected leaflets and staining was performed by using eosin-hematoxylin, safranin fast green, black sudan and comasi berliante blue. The results showed that upon the attack of the pest, its saliva entered in the infected site and induced chlorosis. In addition, the galls were formed in both lower and upper sides of the leaves, and hypertrophy and hyperplasia were observed in palisade and spongy cells as well as hypertrophy in vascular bundles of the leaves. Moreover, reduction in intercellular space in the peripheral Psyllopsis feeding area of parenchymal cells and increase in cell wall thickness of parenchymal and epidermal cells were observed. All of these changes can be considered as a suitable ecological niche for Psyllopsis establishment.

Keywords: Cell wall, Infection, Microscopic analysis, Parenchymal tissue.

* Corresponding Author: e.mohajelkazemi@tabrizu.ac.ir

Copyright©2017, University of Isfahan. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/BY-NC-ND/4.0), which permits others to download this work and share it with others as long as they credit it, but they cannot change it in any way or use it commercially.

زیست‌شناسی گیاهی ایران، سال دوازدهم، شمارهٔ چهل و سوم، بهار ۱۳۹۹، صفحهٔ ۷۱-۸۴
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۸/۰۵/۱۴
تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۹۸/۰۸/۱۸
تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۹/۰۳/۱۳

بررسی تغییرات تشریحی ایجادشده در برگچه‌های گیاه زبان‌گنجشک (*Fraxinus rotundifolia*) در اثر آلودگی با آفت پسیل (*Psyllopsis fraxini*)

الهام محجل کاظمی[1*]، فاطمه علی‌نژاد[1]، هانیه محجل شجا[1]
[1] گروه علوم گیاهی، دانشکدهٔ علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

چکیده
حملهٔ آفت سبب آسیب به ساختارهای سلولی گیاهی می‌شود و با ایجاد اختلال در رشد و فرایندهای تمایز گیاه میزبان، ساختار گیاه را تغییر می‌دهد. پسیل یکی از آفت‌های گیاهی است که با حمله به برگ گیاه و تغذیه از شیرهٔ گیاهی سبب تغییر شکل مورفولوژیکی برگ و تشکیل گال می‌شود. در پژوهش حاضر، بررسی تغییرات تشریحی برگچه‌های آلوده به پسیل گیاه زبان‌گنجشک در مراحل مختلف حملهٔ حشره مدنظر قرار گرفت. تهیهٔ برش‌های میکروتومی از برگچه‌های آلوده و رنگ‌آمیزی آنها با ائوزین- هماتوکسیلین، سافرانین- فست‌گرین، سودان سیاه و کوماسی‌برلیانت‌بلو انجام شد و نمونه‌ها با میکروسکوپ نوری و فلورسنت مشاهده شدند. نتایج نشان دادند با حملهٔ پسیل به گیاه، ورود بزاق حشره به محل آلودگی اتفاق می‌افتد و تأثیر آن در ساختار گیاه ظاهر می‌شود که بارزترین آنها، کلروزه‌شدن محل آلودگی گیاه است؛ به‌علاوه، گال‌هایی در هر دو سطح تحتانی و فوقانی برگچه‌ها تشکیل شدند که مطالعه‌های تشریحی، ورود اندام مکندهٔ پسیل به بافت پارانشیم و هیپرپلازی سلول‌های اپیدرم در ناحیهٔ مجاور آن را نشان دادند. نتایج، ایجاد حالت هیپرتروفی و هیپرپلازی در سلول‌های پارانشیم نردبانی، اسفنجی و نیز هیپرتروفی در دستجات آوندی را نشان دادند؛ علاوه‌براین، کاهش فضای بین‌سلولی در منطقهٔ تغذیه‌ای پسیل در سلول‌های پارانشیمی برگچه‌های آلوده مشاهده شد. افزایش ضخامت دیوارهٔ سلولی در سلول‌های پارانشیمی و اپیدرمی سلول‌های آلوده نسبت به سلول‌های برگچه‌های گیاهان شاهد مشاهده شد که مجموع این تغییرات در راستای ایجاد نیچ اکولوژیکی مناسب برای استقرار پسیل‌ها تلقی می‌شوند.

واژه‌های کلیدی: آلودگی، بافت پارانشیمی، بررسی میکروسکوپی، دیوارهٔ سلولی

* نگارندهٔ مسؤول: نشانی پست الکترونیک: e.mohajelkazemi@tabrizu.ac.ir، شمارهٔ تماس: ۰۴۱۳۲۸۰۸۹۵۵

Copyright©2017, University of Isfahan. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/BY-NC-ND/4.0), which permits others to download this work and share it with others as long as they credit it, but they cannot change it in any way or use it commercially.
DOI. 10.22108/ijpb.2020.118608.1165

مقدمه

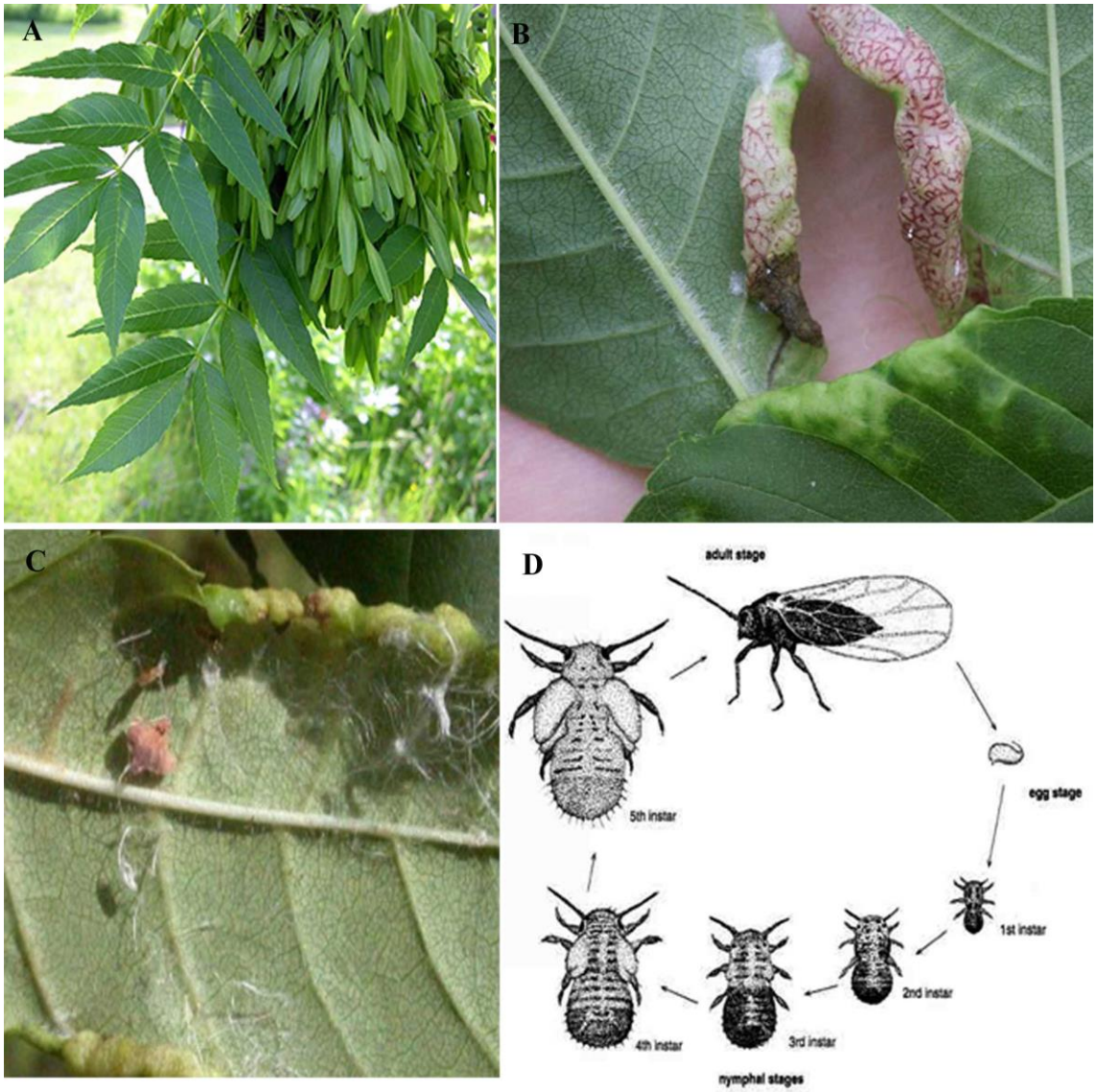
آفت‌های گیاهی یکی از عوامل تهدیدکنندهٔ گیاهان به شمار می‌آیند که با حمله به ریشه، برگ و جوانه از شیرهٔ گیاهی تغذیه می‌کنند و سبب کاهش فتوسنتز و ضعف گیاه می‌شوند (Nabity *et al*., 2013). حشراتی مانند پسیل‌ها (Homoptera, Psyllidae)، شته‌ها، کنه‌ها و نماتودها ازجمله آفت‌های گیاهی هستند (Wardle, 1961). باتوجه‌به مطالعه‌های Rajabi Mazhar و Sadeghi (۲۰۰۶)، معمولاً پسیل‌ها به برگ‌های درختان حمله می‌کنند و با القای گال، سبب ایجاد تغییرات ریختی در گیاه میزبان می‌شوند (Nabity *et al*., 2013). ازآنجاکه رشد بافت‌های گال با تغییر سطوح محتویات سلولی همراه است، ابتدا این تغییرات علیه پسیل است و سپس به محلی برای تغذیه یا زندگی او تبدیل می‌شود (Howe and Jander, 2008). تاکنون گونه‌های مختلفی از پسیل‌ها ازجمله *Psyllopsis machinosus*، *psyllopsis fraxini* L. و *Psyllopsis fraxinicola* روی درخت زبان‌گنجشک ایران گزارش شده‌اند (Rajabi Mazhar and Sadeghi, 2006). گونهٔ *Psyllopsis fraxinicola* رنگ سبز روشن یا زرد مایل به سبز دارد و در تمام نواحی اروپا و نیز گرجستان، قزاقزستان، شمال آفریقا و آمریکای شمالی یافت می‌شود (Albert *et al*., 2011؛ این پسیل در ایران از ورامین و استان‌های شمال کشور گزارش شده است (Rajabi Mazhar and Sadeghi, 2006). گونهٔ *Psyllopsis fraxini* آفت معمول درخت زبان‌گنجشک و تک‌میزبانه است و شدیداً به برگ‌ها و جوانه‌های این درخت حمله می‌کند. دو گونهٔ *Psyllopsis fraxini* و *Psyllopsis fraxinicola* به‌طور انفرادی یا توأم روی برگ درخت زبان‌گنجشک فعالیت دارند (Albert *et al*., 2011). آفت *Psyllopsis fraxini* در شمال‌غرب متداول است؛ این حشره زمستان را به‌شکل تخم به سر می‌برد و تخم پسیل از اواخر آبان روی سرشاخه‌ها مشاهده می‌شود و در اواسط آذر به حداکثر تعداد خود می‌رسد (Martoni *et al*., 2016). در بهار، تخم‌ها تفریخ می‌شوند و پوره‌ها مکیدن شیرهٔ گیاهی را آغاز و شکرک ایجاد می‌کنند (Albert *et al*., 2011). در شرایط آب‌وهوایی سرد و خشک، جمعیت پوره از فروردین افزایش می‌یابد و در اواخر اردیبهشت به بیشترین مقدار خود می‌رسد. پوره و حشرات کامل پسیل شیرهٔ پرورده را می‌مکند و با واردکردن بزاق خود به درون سلول‌ها و برهم‌زدن هورمون‌های گیاهی سبب لوله‌ای‌شدن حاشیهٔ برگ‌ها و تبدیل آن به گال می‌شوند (شکل ۱، B و C). ابتدا گال‌ها سبز هستند و سپس به زرد، بنفش و سرانجام به قهوه‌ای تیره تغییر رنگ می‌دهند که این عوارض سبب ضعف شدید درخت می‌شوند (Martoni *et al*., 2016).

گیاه *Fraxinus rotundifolia* (درخت زبان‌گنجشک یا ون) از تیرهٔ زیتون (Oleaceae) و دارای گسترش درخور توجهی در ایران است (Mozafarian, 2006). تعداد برگچه‌های این گیاه ۳ تا ۷ عدد، برگ‌ها به طول ۵ تا ۲۰ سانتی‌متر، شاخچه‌ها سه‌تایی، برگچه‌ها با دندانهٔ اره‌ای درشت و میوهٔ آن فندقه بال‌دار بیضوی‌شکل است (شکل ۱، A). گیاه زبان‌گنجشک نسبت به خشکی مقاوم است و برای پوشاندن مناطق خشک و سایه‌دهی در فضای سبز و به‌شکل درخت خیابانی استفاده می‌شود. پاسخ‌های دفاعی گیاهان در برابر عوامل بیماری‌زا بسته به نوع عامل بیماری‌زا و نوع گونهٔ گیاهی و مرحلهٔ نموی آن بسیار متغیر است (Malenovský and Jerinić-Prodanovic, 2011). معمولاً نخستین تماس آفت‌ها با میزبانشان در سطح گیاه رخ می‌دهد. نفوذ بیماری‌زاها به

درون بافت پارانشیم از طریق تجزیهٔ دیواره‌های سلولی، پروتئین‌های ساختمانی و تیغه‌های میانی سلول‌ها انجام می‌شود؛ تجزیهٔ هریک از این مواد در نتیجهٔ عمل یک یا چند دسته از مواد آنزیمی تراوش‌شده از آفت‌ها انجام می‌شود (Agrawal *et al*., 2009). گیاهان واکنش‌های متفاوتی در برابر حمله و فعالیت آفت‌ها نشان می‌دهند و درنهایت، مواد شیمیایی و موانع ساختاری را ایجاد می‌کنند؛ درنتیجه، تنها در حالتی عوامل بیماری‌زا می‌توانند به حیات خود ادامه دهند که توانایی حذف همهٔ این موانع را داشته باشند (Martoni *et al*., 2016). آفت‌ها به روش‌های متفاوتی به گیاهان آسیب می‌رسانند؛ به‌طوری‌که آفت‌هایی مانند پسیل و شته از طریق ورود خرطوم خود به درون بافت آوندی سبب آسیب به گیاه می‌شوند. در مطالعه‌های Will و Vilcinskas (۲۰۱۵) مشخص شده است حشرهٔ شته خرطوم خود را در راهی بین‌سلولی به‌سوی لولهٔ آبکش فرو و در این هنگام، مقداری بزاق آب‌دار را نیز وارد می‌کند؛ به نظر می‌رسد این عمل برای مقابله با سازوکارهای دفاع گیاهی انجام می‌شود (Louis and Shah, 2013). پس‌از مرحلهٔ یادشده، شته‌ها شروع به جذب شیرهٔ پرورده می‌کنند؛ درحالی‌که به‌طور متناوب بزاق بیشتری ترشح می‌کنند (Louis and Shah, 2013). مطابق مطالعه‌های Will و Vilcinskas (۲۰۱۵)، آفت‌ها با ترشح مواد شیمیایی که بر برخی از اجزای ساختمانی و متابولیسم میزبان اثر می‌گذارند، به گیاه نفوذ می‌کنند. باتوجه‌به اهمیت پروتئین‌ها (به‌شکل آنزیم، مواد تشکیل‌دهندهٔ غشاها یا اجزای ساختمانی دیوارهٔ سلول‌های گیاهی)، می‌توان دریافت عوامل ایجادکنندهٔ بیماری با ترشح آنزیم‌های تجزیه‌کنندهٔ پروتئین‌ها چه تأثیر عمیقی بر سازمان و عملکرد سلول‌های میزبان می‌گذارند (Will and Vilcinskas, 2015). در پژوهش Forneck و همکاران (۲۰۰۲) گزارش شده است اثر حملهٔ *Phylloxera vastatra* به ریشهٔ درخت انگور سبب ایجاد گال روی ریشه‌های جوان می‌شود. مطالعه‌ای به روش‌های بافت‌شناسی و هیستوشیمیایی در زمینهٔ فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، لوسین‌آمینوپپتیداز و اسیدفسفاتاز در گال‌های ریشهٔ درخت انگور انجام شده است (Forneck *et al*., 2002). در پژوهشی، افزایش فعالیت متابولیسمی در منطقهٔ گرهک ریشه در مقایسه با ریشه‌های شاهد مشاهده شد و دانه‌های نشاسته در گال‌های جوان در ناحیهٔ تغذیهٔ حشره بسیار افزایش یافتند؛ درحالی‌که از میزان نشاسته در گال‌های بالغ کاسته شد و فعالیت آنزیم‌ها افزایش یافت (Forneck *et al*. 2002). باتوجه‌به یافته‌های Steppuhn و Baldwin (۲۰۰۷)، مهارکننده‌های تریپسین‌پروتئیناز و بیان نیکوتین در پاسخ دفاعی علیه *Spodoptera exigua* در گیاه *Nicotiana attenuata* فعالیت دارند؛ از سویی، گیاهان از طریق سازوکارهای متفاوت در برابر تنش‌ها ازجمله تنش‌های زیستی واکنش نشان می‌دهند و در اغلب پژوهش‌ها، تغییرات فعالیت آنزیم پراکسیداز به‌شکل شناساگر تنش‌های مختلف در گیاهان استفاده می‌شود (Hadavi *et al*., 2010). در شرایط خاصی، ورود خرطوم پسیل در محل آلودگی سبب ورود ریزموجوداتی مانند باکتری‌ها می‌شود؛ برای نمونه در حملهٔ پسیل جنس *Citrus*، ورود باکتری‌ها به داخل بافت آبکش پس‌از ورود خرطوم مشاهده شده است (Cranshaw and Shetlar, 2017).

یکی از عوامل تهدیدکنندهٔ پوشش گیاهی در مناطق مختلف شهری، حملهٔ آفت‌ها به گیاهان آن منطقه است که آثار مخربی را در سطح اکولوژیک، مورفولوژیک و فیزیولوژیک روی پوشش گیاهی می‌گذارد (Arimura

(*et al*., 2009). مطالعهٔ پاسخ القاشده در گیاهان آلوده به آفت طی دههٔ اخیر موجب شد موفقیت‌های چشمگیری در تنظیم جمعیت و کنترل آفت‌های کشاورزی به دست آیند (Arimura *et al*., 2009). باتوجه‌به افزایش سطح کاشت گیاه زبان‌گنجشک در فضای سبز شهری و امکان گسترش آلودگی یادشده و تأثیر نامطلوب آن بر زیبایی و رشد گیاه، بررسی همه‌جانبهٔ این آلودگی در شاخه‌های مختلف علوم طبیعی ضروری به نظر می‌رسد؛ ازاین‌رو هدف پژوهش حاضر، بررسی تغییرات تشریحی برگچه‌های آلوده به پسیل گیاه زبان‌گنجشک در مراحل مختلف حملهٔ حشره و مقایسهٔ آنها با برگچه‌های سالم و مشخص‌کردن نوع سازوکار دفاعی گیاه در برابر آن است.



شکل ۱- A. درخت زبان‌گنجشک، B و C. سطح زیرین برگ درخت زبان‌گنجشک که پسیل به آن حمله کرده است، D. چرخهٔ زندگی آفت پسیل که از مرحلهٔ تخم آغاز می‌شود و پس‌از طی مراحل پورگی که در پنج مرحله نشان داده شده است، به‌شکل حشرهٔ بال‌دار بالغ ظاهر می‌شود.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه: پس‌از مطالعه‌های مورفولوژیکی و رده‌بندی و مطابقت گونهٔ گیاهی *Fraxinus rotundifolia* با هرباریوم دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه تبریز واقع در ایستگاه تحقیقاتی خلعت‌پوشان به شمارهٔ هرباریومی ۱۱۶۳۴ و اطمینان‌یافتن از گونهٔ گیاهی، نمونه‌برداری از درخت زبان‌گنجشک انجام شد. نمونه‌برداری در اواخر تیر و مرداد ۱۳۹۷ از برگچه‌های جوان سالم و آلوده به پسیل گیاه زبان‌گنجشک در سه سطح آلودگی ضعیف، متوسط و شدید در محل باغ گیاه‌شناسی دانشگاه تبریز انجام شد. معیار انتخاب سطوح آلودگی برگچه‌ها، ویژگی مورفولوژیکی برگچه‌های آلوده در مناطق حملهٔ آفت بر اساس تغییر رنگ و میزان پیچش برگ بود. دست‌کم ۶۰ نمونه برای هر سطح جمع‌آوری شد (شکل ۲).

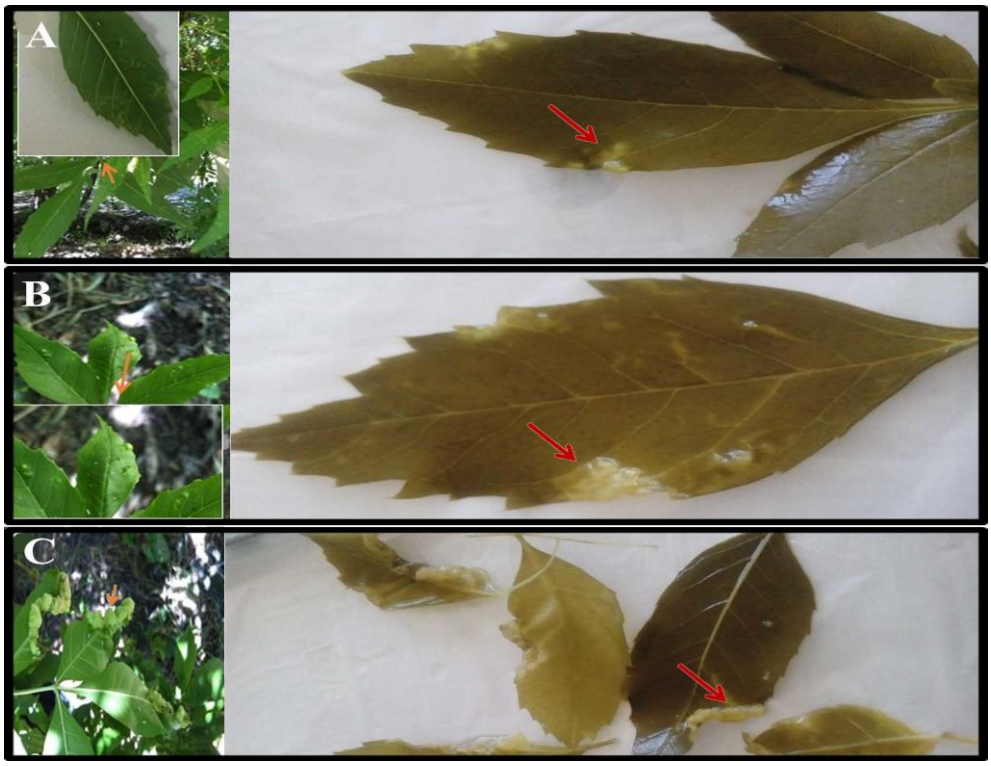
بررسی میکروسکوپی: پس‌از شستشوی اولیه، نمونه‌های تهیه‌شده در تثبیت‌کننده فرمالین‌استیک‌الکل (۵ میلی‌لیتر فرمالدئید ۳۷ درصد، ۹۰ میلی‌لیتر اتانول ۵۰ درصد و ۵ میلی‌لیتر گلاسیال‌استیک‌اسید) تثبیت شدند؛ قراردادن نمونه‌ها در محلول اتانول با درجه‌های فزاینده سبب آب‌گیری از نمونه‌ها به‌طور تدریجی شد و سپس نمونه‌ها در محلول گزیلن قرار داده شدند. در مرحلهٔ بعد، پارافین‌دهی نمونه‌ها در سه نوبت داخل آون انجام شد. پس‌از قالب‌گیری، برش‌هایی به ضخامت ۲۰ میکرون به کمک دستگاه میکروتوم با دستهٔ‌چرخان (R JUNG HEIDELBERG) ساخت کشور آلمان) تهیه شدند و پس‌از رنگ‌آمیزی با ائوزین- هماتوکسیلین، سافرانین-فست‌گرین، کوماسی‌برلیانت‌بلو و سودان سیاه مطابق روش Berlyn و همکاران (۱۹۷۶)، نمونه‌ها زیر میکروسکوپ نوری و فلورسنت مدل NOVEL-N800-F مجهز به دوربین Truechrom Metrics بررسی شدند. به‌منظور اطمینان‌یافتن از تکرار مشاهده‌های برش‌گیری، به‌طور میانگین ۱۵ نمونه برای هر سطح رنگ‌آمیزی و تصویربرداری شد.

بررسی آفت‌ها: به‌منظور بررسی اینکه کدام آفت سبب ایجاد گال در برگچهٔ گیاه زبان‌گنجشک شده است، آفت‌های موجود در حفرهٔ گال در تمام سنین حشره جمع‌آوری و برای شناسایی به گروه گیاه‌پزشکی دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه تبریز منتقل شدند.

نتایج

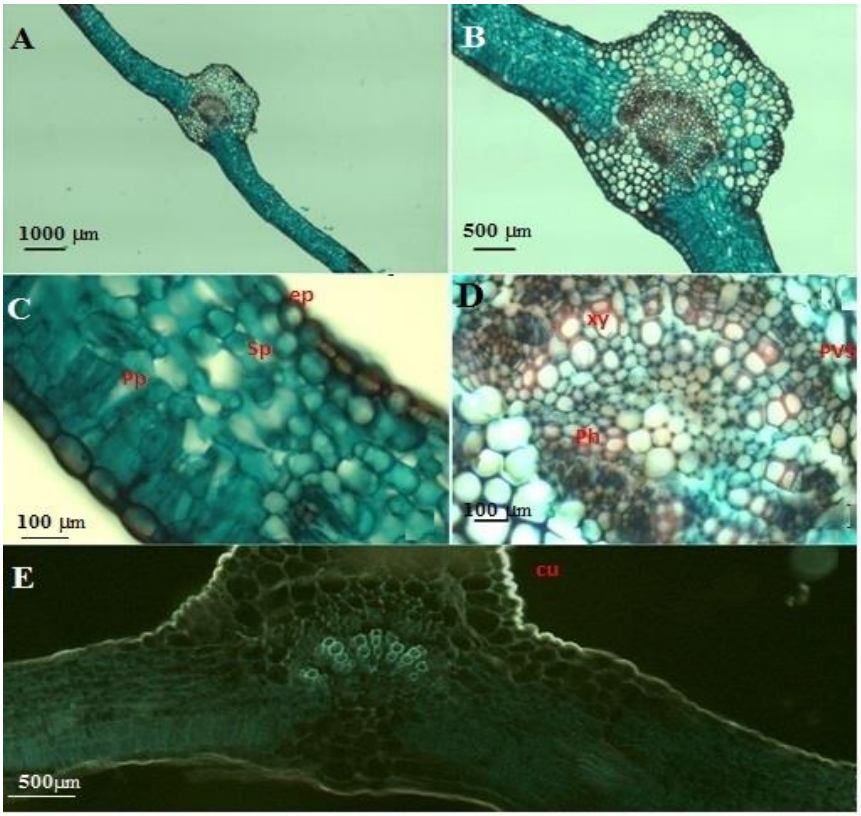
اثر حملهٔ پسیل بر ویژگی‌های مورفولوژیکی برگچهٔ زبان‌گنجشک: حملهٔ پسیل به برگچه‌های گیاه زبان‌گنجشک سبب تغییرات ریختی برگچه‌ها شد و این تغییرات در سه سطح ضعیف، متوسط و شدید طبقه‌بندی شدند (شکل ۲). سطح ضعیف به برگچه‌هایی اطلاق شد که در منطقهٔ زیر پوره با تغییر رنگ (ازبین‌رفتن کلروپلاست) نسبت به مکان‌های غیرآلوده مشخص بودند. افزون بر تغییر رنگ، سطح متوسط دارای برجستگی در محل آلوده نسبت به سطح برگچه بود. در سطح شدید، پیچیدگی برگچه در منطقهٔ حملهٔ پسیل اتفاق افتاده بود (شکل ۲). بررسی گیاه‌پزشکی مشخص کرد نوع حشرهٔ موجود در حفرهٔ گال، پسیل است؛ درحالی‌که شته تنها در سطح برگچه‌ها حضور داشت و شته‌ای در حفرهٔ گال مشاهده نشد. مطابق

تجزیه‌وتحلیل ویژگی‌های ظاهری درخت زبان‌گنجشک، مشخص شد بیشترین میزان حملهٔ پسیل در ارتفاع‌های پایین درخت اتفاق افتاده و آفت بیشتر به برگ‌های جوان در مقایسه با برگ‌های بالغ حمله کرده است. باتوجه‌به وجود سطوح آلودگی شدید و متوسط در ناحیهٔ حاشیهٔ برگچه، استنباط می‌شود این منطقهٔ برگچه‌ای برای استقرار پسیل در گیاه زبان‌گنجشک ارجحیت دارد.



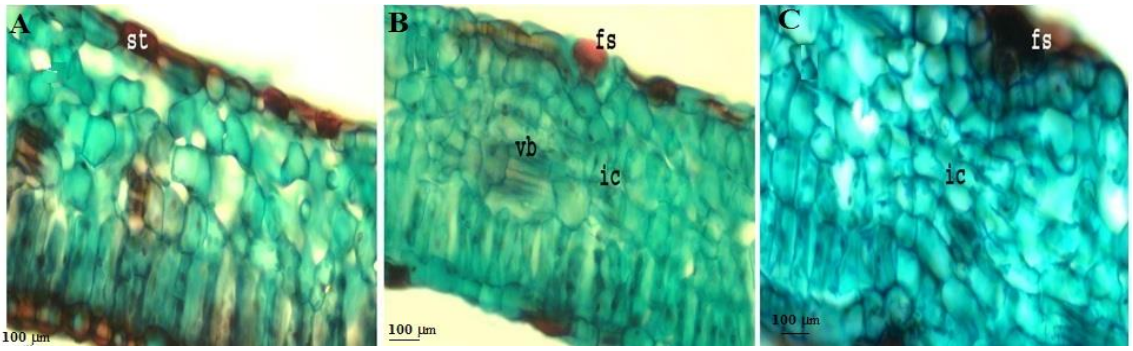
شکل ۲- سطوح مختلف آلودگی برگچهٔ گیاه زبان‌گنجشک؛ A. سطح ضعیف، B. سطح متوسط، C. سطح شدید؛ پیکان‌ها بزرگ‌نمایی بخشی از تصویر را نشان می‌دهند.

اثر حملهٔ پسیل بر تغییرات تشریحی برگچهٔ زبان‌گنجشک: شکل ۳ برش عرضی ساختارهای تشریحی پهنک برگچهٔ میانی *Fraxinus rotundifolia* را نشان می‌دهد. لایهٔ اپیدرم که از سلول‌های روزنه‌ای تشکیل شده است، شامل دو بخش تحتانی و فوقانی است که با لایه‌ای از کوتیکول پوشانده شده است. مزوفیل با بافت اپیدرم احاطه شده است و در سطح فوقانی شامل یک ردیف سلول‌های کشیده و باریک پارانشیم نردبانی است و زیر پارانشیم نردبانی، پارانشیم حفره‌ای یا اسفنجی قرار دارد که با وجود حفره‌هایی در بین خود، بخش اعظم حجم برگ را تشکیل می‌دهد و تا اپیدرم تحتانی مشاهده می‌شود. سلول‌های پارانشیمی غلاف آوندی بخشی از پهنک را تشکیل می‌دهند و آوند چوب، آوند آبکش و سلول‌های پارانشیمی غلاف آوندی را شامل می‌شوند. آوند چوبی متمایل به‌سمت محور برگچه‌ها و آبکش به‌سمت دور از محور برگچه‌ها قرار گرفته است (شکل ۳، C و D).

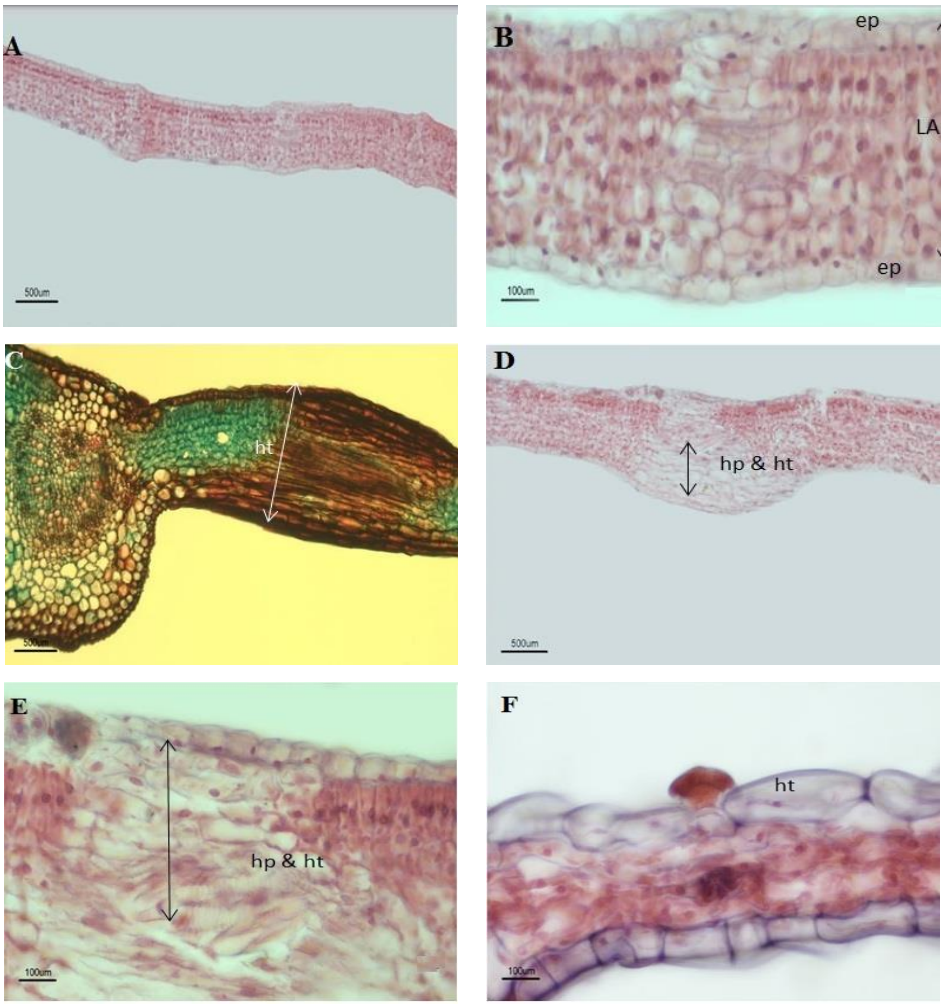


شکل ۳- برش عرضی برگچهٔ شاهد گیاه زبان‌گنجشک؛ A و C. پهنک برگ، B، D و E. رگبرگ میانی برگچه، A–D. رنگ‌آمیزی سافرانین‌فست‌گرین. مشاهده‌های تصاویر A-D با میکروسکوپ نوری و e با میکروسکوپ فلورسنت انجام شده‌اند. cu: کوتیکول،ep: اپیدرم، ph: فلوئم، pp: پارانشیم، pvs: غلاف آوندی، xy: گزیلم

نتایج مطالعهٔ تشریحی برگچه‌های *Fraxinus rotundifolia* آلوده به پسیل نشان دادند حملهٔ پسیل به هر دو سطح بالایی و پایینی برگچه‌ها انجام شده و تغییرات درخور توجهی را در ساختار پهنک برگ ایجاد کرده است؛ به‌طوری‌که با حملهٔ پوره‌های پسیل به سطح اپیدرم و ایجاد فشار بر سلول‌های آن، فرورفتگی سطح اپیدرم در منطقهٔ آلودگی با حشره دیده می‌شود (شکل ۴، C). در تمام نمونه‌ها، حمله در نزدیکی ناحیهٔ آوندی انجام شده است و در این نواحی، کاهش فضای بین‌سلولی به‌علت فشردگی سلول‌های پارانشیم اسفنجی مشاهده می‌شود (شکل ۴، B و C). مشاهده‌های مقایسه‌ای میکروسکوپی نشان دادند در پاسخ به حمله، تغییراتی از نظر شکل ظاهری و تعداد لایه‌های سلول‌ها در برگچه‌های آلوده به پسیل گیاه زبان‌گنجشک در مقایسه با برگچهٔ شاهد ایجاد می‌شوند. سلول‌های اپیدرمی در برگچه‌های شاهد حالت کشیدگی را ندارند (شکل ۵، A)؛ درحالی‌که سلول‌های اپیدرمی برگچهٔ آلوده در منطقهٔ تغذیه‌ای پسیل به حالت کشیده و طویل دیده می‌شوند (شکل ۵، F). ضخامت برگ در برگچه‌های آلوده در مقایسه با شاهد افزایش یافت که این امر به‌علت هیپرتروفی (رشد بسیار بیشتر) در دستجات آوندی (شکل۵، C و D)، هیپرپلازی (تقسیم سریع‌تر) و هیپرتروفی در سلول‌های اپیدرمی و سلول‌های پارانشیمی رخ داده است (شکل۵، D، E و F).

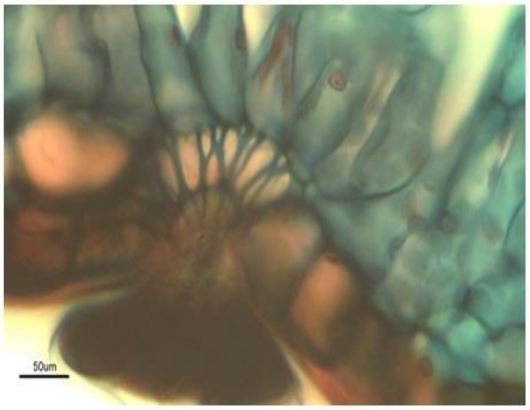


شکل ۴- مقطعی عرضی از حملهٔ پسیل در نواحی مجاور دستجات آوندی و فشردگی سلول‌های پارانشیم در همان منطقه که با میکروسکوپ نوری تصویربرداری شده است؛ A. برگچهٔ شاهد بدون آلودگی، B. حملهٔ پسیل در نزدیکی محل آوند و فشردگی سلول‌ها، C. حملهٔ پسیل به هر دو سطح اپیدرم. نمونه با سافرانین- فست‌گرین رنگ‌آمیزی شده است. fs: ناحیه تغذیه‌ای پسیل، vb: دستجات آوندی، ic: فشردگی سلول‌ها، st: روزنه



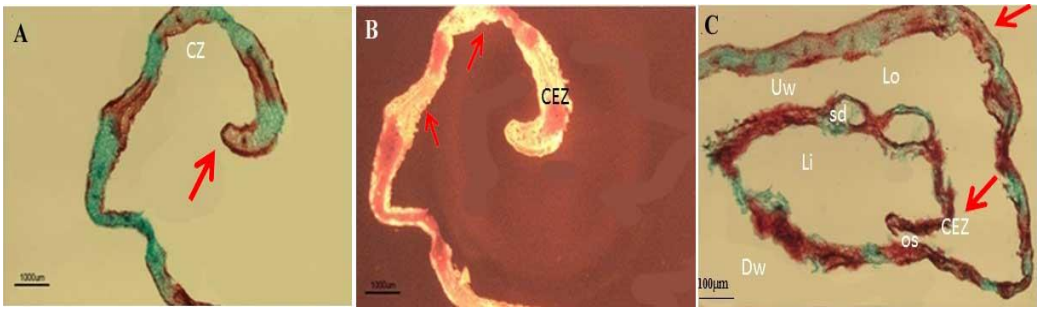
شکل ۵- هیپرتروفی در دستجات آوندی، هیپرپلازی و هیپرتروفی (پیکان مشکی) در سلول‌های اپیدرمی و سلول‌های پارانشیمی که با میکروسکوپ نوری تصویربرداری شده است؛ A و B. برگچهٔ شاهد، C، D، E و F. برگچهٔ آلوده به پسیل. نمونهٔ C با سافرانین- فست‌گرین و نمونه‌های A، B، D، E و F با ائوزین- هماتوکسیلن رنگ‌آمیزی شده‌اند. ep: اپیدرم، LA: پهنک برگ، ht: هیپرتروفی، hp: هیپرپلازی

ورود خرطوم راهی را برای نفوذ ریزموجودات باز می‌کند و گیاهان با سازوکارهای متفاوتی در برابر ریزموجودات مقاومت می‌کنند؛ یکی از روش‌های مقابله، ایجاد رشته‌هایی از جنس دیوارهٔ سلولی است که در راستای ممانعت از تکثیر و به‌دام‌انداختن ریزموجودات عمل می‌کنند. در بررسی نمونه‌ها مشاهده شد مادهٔ رشته‌ای ایجادشده از لایهٔ خارجی دیوارهٔ پارانشیم در احاطهٔ ریزموجودات و جلوگیری از تکثیر آنها نقش دارد (شکل ۶).

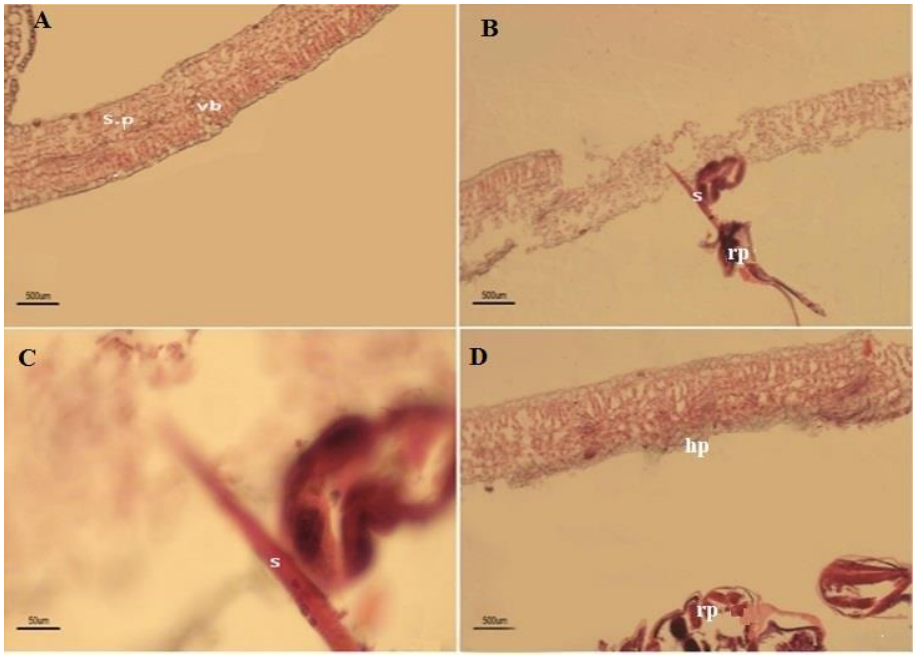


شکل ۶- احاطهٔ ریزموجودات با سلول‌های پارانشیم؛ نمونه با سافرانین- فست‌گرین رنگ‌آمیزی و با میکروسکوپ نوری تصویربرداری شده است.

نتایج نشان دادند حملهٔ پسیل سبب افزایش ضخامت لایهٔ کوتیکول می‌شود. اتصال دو انتهای اپیدرم (بالا و پایین) برگچه‌ها نشان‌دهندهٔ منطقهٔ بسته است (شکل ۷، A) که در اثر پیچش برگچه به‌سمت اپیدرم سطح پشت برگ، دو حفرهٔ داخلی و خارجی شکل می‌گیرند؛ منفذی در ناحیهٔ پیچیدگی برگچه ایجاد می‌شود که محل عبور پوره‌های پسیل‌ها پس‌از بلوغ است. تشکیل حفره در برگچه سبب ایجاد نیچ اکولوژیکی مناسب برای رشد پسیل می‌شود (شکل ۷، C). در سلول‌های پهنک برگچه‌ای که پسیل به‌شدت به آن حمله کرده است، ضخامت دیوارهٔ سلولی در اثر رسوب زیاد لیگنین بیشتر از برگچهٔ شاهد است (شکل ۷، B). در مطالعهٔ برگچه‌های آلوده، محل ورود خرطوم پسیل به پهنک برگچه (شکل ۸، B) و بی‌نظمی سلول‌های پارانشیم اسفنجی نسبت به شاهد در این منطقه مشخص شد، ولی تفاوتی ازنظر تعداد لایه‌های اپیدرم در مقایسه با نمونهٔ شاهد وجود نداشت؛ باوجوداین، افزایش تعداد لایه‌های اپیدرم در ناحیهٔ مجاور آن به‌شکل هیپر پلازی مشاهده شد (شکل ۸، D).



شکل۷- شکل‌گیری نیچ پسیل؛ A. ایجاد خمیدگی در لبه‌های برگ به دنبال آلودگی با پسیل (پیکان محل شروع خمیدگی را نشان می‌دهد)، A و B. لیگنینی یا سوبرینی‌شدن دیوارهٔ سلول‌های پیرامون محل آلودگی (در شکل B، پیکان‌ها محل لیگنینی‌شدن را نشان می‌دهند)، C. پیشرفت خمیدگی و پیچیده‌شدن لبهٔ برگ به‌طور کامل برای ایجاد نیچ اکولوژیکی پسیل (پیکان‌ها مسیر پیچیدگی را نشان می‌دهند)، نمونه‌های A، B و C با سافرانین- فست‌گرین رنگ‌آمیزی شده‌اند. نمونه‌های A و C با میکروسکوپ نوری ونمونهٔ B با میکروسکوپ فلورسنت تصویربرداری شده‌اند. li: حفرهٔ داخلی، lo: حفرهٔ خارجی، uw: دیوارهٔ فوقانی حفره، lw :دیوارهٔ تحتانی حفره، sd: مجرای ترشحی، oS: منفذ، cz: ناحیهٔ بسته، cez: ناحیهٔ لیگنینی یا سوبرینی



شکل ۸- تصویر تهیه‌شده با میکروسکوپ نوری از برش سریالی طولی برگچه‌ای که پسیل به آن حمله کرده است؛ A. برگچهٔ شاهد، B و C. محل ورود خرطوم، D. مقاومت از نوع هیپرپلازی اپیدرم، نمونه‌های A، B، C و D با ائوزین هماتوکسیلین رنگ‌آمیزی شده‌اند. vb: دستجات آوندی، rp: باقیمانده از پسیل‌ها، s: اندام مکندهٔ پسیل، hp: هیپرپلازی اپیدرم

بحث

در پژوهش حاضر به مطالعهٔ تغییرات ریختی و تشریحی برگچهٔ گیاه زبان‌گنجشک طی حملهٔ آفت پسیل پرداخته شد. نتایج نشان دادند در پی حملهٔ پسیل به گیاه و ورود بزاق حشره به محل آلودگی، کلروزه‌شدن محل آلودگی رخ می‌دهد. در آلودگی برگ با حشرات، گونه‌های گیاهی مختلف پاسخ‌های متفاوتی را بسته به نوع حشرهٔ حمله‌کننده و تعداد آن نشان می‌دهند (Malenovský and Jerinić-Prodanovic, 2011)؛ برای نمونه، کلنی *A. lantanae* در گیاه *L. camara* سبب ایجاد گال‌های خاردار با سطح نامنظم و کرک‌دار می‌شود و حشرهٔ *C. duvauae* گال‌های منظم و بدون کرک را در گیاه *S. polygamus* ایجاد می‌کند (Moura *et al.*, 2008). درخت آلوده به پسیل *F. rotundifolia* با گال‌های بی‌رنگ آن تشخیص داده می‌شود (Maneva *et al.*, 2009) و پژوهشگران علت این امر را محتوای رنگدانهٔ کمتر بخش آلوده نسبت به بخش سالم گیاه می‌دانند که به استفاده‌نشدن کارآمد از انرژی نوری و درنتیجه، کاهش شدت خالص تغییرات فتوسنتزی منجر می‌شود (Maneva *et al.*, 2009). ازآنجاکه تنوع ساختار داخلی گال باید با تغذیهٔ ساکنان آن منطبق باشد، بخشی که گال تشکیل می‌شود کارایی بیشتری ازنظر تأمین غذایی نسبت به بخش‌های مجاور غیرآلوده در همان برگ دارد (Scareli-Santos *et al.*, 2008). مطالعه‌ها نشان داده‌اند در گیاه *Pouteria torta*، شکل‌گیری گال در برگ‌های جوان و بالغ مشاهده می‌شود و این امر نشان‌دهندهٔ توان پاسخ‌دهی در برابر حملهٔ حشره بدون توجه به سن برگ است (Scareli-Santos *et al.*, 2008).

باتوجه‌به اینکه منطقه‌ای از گیاه که با حشره آلوده شده است، اهمیت بسزایی ازنظر تغذیهٔ شیرهٔ گیاهی و زادآوری حشره دارد (Zucker, 1982)، در مطالعهٔ حاضر به بررسی محل آلودگی گیاه زبان‌گنجشک در اثر حملهٔ پسیل پرداخته و مکان قرارگیری پسیل در هر دو سطح اپیدرم برگچه‌ها به‌ویژه فراوانی حضور در سطح فوقانی مشخص شد. پس‌از استقرار پسیل روی برگچه‌ها و بر اثر فشاری که بر دیوارهٔ سلولی گیاه وارد می‌کند، فرورفتگی سطح اپیدرم در آن منطقه مشاهده می‌شود؛ به نظر می‌رسد این عمل موجب تسهیل پیش‌روی بیماری‌زا در نفوذ به بافت‌های عمقی‌تر می‌شود (Agrawal *et al*., 2009). ازآنجاکه سطح تحتانی و فوقانی برگچهٔ زبان‌گنجشک با لایه‌ای از کوتیکول احاطه شده است، ضخامت کوتیکول نوعی پاسخ به تنش در نظر گرفته می‌شود (Gutschick, 1999)؛ همچنین مطالعه‌ها نشان داده‌اند در برگچه‌های در معرض آلودگی شدید پسیل، افزایش ضخامت لایهٔ کوتیکول به‌منظورحفاظت از تخم‌های حشره در برابر درجه‌حرارت و حفظ رطوبت برگ ایجاد می‌شود (Gutschick, 1999). در گیاه *Pistacia terebinthus* نیز نتایج مشابهی در زمینهٔ ایجاد کوتیکول بر اثر حملهٔ شته مشاهده شده است (Stone and Schönrogge, 2003).

در بررسی نمونه‌های پژوهش حاضر، احاطهٔ ریزموجودات با سلول‌های پارانشیم در برگچهٔ آلوده به پسیل گیاه زبان‌گنجشک دیده شد. لایهٔ خارجی دیوارهٔ سلولی سلول‌های پارانشیمی که در تماس با ریزموجودات قرار دارند، متورم می‌شود و ماده‌ای رشته‌ای را تولید می‌کند که ریزموجود را محاصره می‌کند و مانع تکثیر آن می‌شود. نتایج پژوهش حاضر با یافته‌های Chisholm و همکاران (۲۰۰۶) همخوانی دارند. در گیاه زبان‌گنجشک، کاهش فضای بین‌سلولی در ناحیهٔ حمله و فشردگی سلول‌های پارانشیم اسفنجی سبب پیچش سطح پایینی برگچه به‌سمت سطح بالایی می‌شود تا پوره‌ها قرار گیرند و بلافاصله سلول‌های اطراف پوره به‌سمت بالا رشد می‌کنند (از طریق هیپرپلازی سلول‌های اپیدرم) تا پوشش ویژه‌ای را برای پوره‌ها ایجاد کنند (Crespi and Worobey, 1998). یافته‌های پژوهش حاضر، لیگنینی و سوبرینی‌شدن سلول‌های پیرامون محل حملهٔ پسیل را در برگچه‌های زبان‌گنجشک نشان می‌دهند. در محل آلودگی، مواد ترشح‌شده از عامل حمله‌کننده موجب تحریک میزبان و تولید سلولز در سلول می‌شود و گیاه با این سازوکار از رسیدن غذا به محل آلوده و نفوذ مواد سمی تراوش‌شده از حشره جلوگیری می‌کند (War *et al*., 2012)؛ نتایج یادشده با نتایج پژوهشی مطابقت دارند که روی ریشه‌های آلودهٔ انگور با شته انجام شده و افزایش سلولز، پکتین و لیگنین را گزارش کرده است (Du *et al*., 2011). پس‌از مدتی، افزایش ضخامت دیوارهٔ سلولی سلول‌های پارانشیمی و اپیدرمی نوعی سازگاری بین گال و حشرهٔ حمله‌کننده است (Stone and Schönrogge, 2003).

باتوجه‌به اینکه ساختمان‌های دفاعی دیوارهٔ سلولی شامل تغییراتی است که در شکل دیوارهٔ سلولی رخ می‌دهند (Oliveira and Isaias, 2010)، در حفره‌های داخلی گال برگچهٔ گیاه زبان‌گنجشک، افزایش ضخامت دیواره در برخی مکان‌ها مشاهده شد که احتمالاً از هیپرتروفی و هیپرپلازی سلول‌های

پارانشیم و اپیدرم در پیرامون مکان‌های آلوده ناشی می‌شود. Souza و همکاران (۲۰۰۰) در گزارش خود بیان کرده‌اند هیپرپلازی و هیپرتروفی سلول‌های پارانشیم سبب افزایش ضخامت دیواره‌های گال می‌شود؛ باوجوداین، نتایج آزمایش روی ریشه‌های آلوده به شتهٔ انگور نشان دادند با افزایش لایه‌های پریدرم، کوچک‌ترشدن اندازهٔ سلول‌های پارانشیمی اتفاق می‌افتد (Du *et al.*, 2011). حفرهٔ بسته‌ای که داخل گال‌ها در اثر پیچش برگ و افزایش ضخامت دیوارهٔ سلولی ایجاد می‌شود، بسیار محکم و محافظِ پسیل‌ها در دوره‌های کم‌آبی است و از آنها در برابر دشمنان طبیعی محافظت می‌کند (Price *et al.*, 1987)؛ مشابه نتایج یادشده برای شته‌ها نیز اثبات شده است (Stone and Schönrogge, 2003). ورود خرطوم پسیل به برگچهٔ زبان‌گنجشک موجب تخریب سلول‌ها در ناحیهٔ تغذیه‌ای و مسیر ورودی می‌شود که با نتایج Arduin و همکاران (۲۰۰۵) مشابهت دارد. در محل ورود خرطوم پسیل به برگچهٔ گیاه زبان‌گنجشک، تغییرات سلول‌های اپیدرمی به‌شکل هیپرپلازی در ناحیهٔ مجاور آن دیده می‌شود که این عمل، سازوکار دفاعی گیاه در مقابله با نفوذ حشره به شمار می‌آید (Raman, 2003). باتوجه‌به نتایج پژوهش حاضر، هیپرتروفی دستجات آوندی در برگچهٔ آلوده به پسیل زبان‌گنجشک در مقایسه با برگچهٔ شاهد مشخص است. در بررسی‌های Wool و Bar-El (۱۹۹۵) گزارش شده است این تغییرات برای سهولت دسترسی حشره به منبع غذایی ایجاد می‌شوند که برای رشد گال الزامی است. نتایج گزارش‌های Sá و همکاران (۲۰۰۹) در زمینهٔ آلودگی گیاه *Bauhinia brevipes* با حشرهٔ *Schizomyia macrocapillata* و گزارش‌های Dorchin و همکاران (۲۰۰۲) دربارهٔ آلودگی گیاه *Suaeda monoica* با *Lzeniola obesula* بر نتیجهٔ یادشده منطبق است.

جمع‌بندی

برگچهٔ آلوده به پسیل *F. rotundifolia* با تغییرات ساختار تشریحی ازجمله افزایش ضخامت لایهٔ کوتیکول، لیگنینی‌شدن سلول‌های پیرامون محل حملهٔ پسیل و هیپرپلازی و هیپرتروفی سلول‌ها سبب افزایش ضخامت دیوارهٔ گال در مقایسه با برگچهٔ شاهد می‌شود که این امر به ایجاد پوشش ویژه برای پوره‌های پسیل منجر می‌شود و از حشره در برابر حرارت و کمبود رطوبت محافظت می‌کند؛ درحقیقت، پسیل منابع گیاهی بافت میزبان را به نفع خود تغییر می‌دهد و پتانسیلی در بافت‌های آلوده به پسیل آشکار می‌شود که در بافت سالم گیاهی دیده نمی‌شود. گال‌های ماکروسکوپی ایجادشده در اثر حملهٔ پسیل، ظاهر غیرهموار و بی‌شکلی را در برگچه‌های زبان‌گنجشک نمایش می‌دهند. برش‌های تشریحی گال‌های ناشی از پسیل نشان می‌دهند در اغلب نمونه‌ها، حملهٔ شته از مقابل دستجات آوندی انجام می‌شود. یکی از نکات درخور توجه مطالعهٔ حاضر، مشاهدهٔ چندین نوع نشانهٔ درونی به‌طور هم‌زمان در برگچهٔ آلوده به پسیل است که چنین حالتی ممکن است به‌علت آلوده‌شدن هم‌زمان با چندین گونه باشد. باتوجه‌به نتایج پژوهش حاضر و آگاهی از سازوکار دفاعی ساختاری گیاه زبان‌گنجشک می‌توان در زمینهٔ کنترل آفت در این گیاه تصمیم‌گیری کرد.

References

Agrawal, A. A., Fishbein, M., Jetter, R., Salminen, J. P., Goldstein, J. B., Freitag, A. E. and Sparks, J. P. (2009) Phylogenetic ecology of leaf surface traits in the milkweeds (*Asclepias* spp.): Chemistry, ecophysiology, and insect behavior. New Phytologist 183: 848-867.

Albert, S., Padhiar, A., Gandhi, D. and Nityanand, P. (2011) Morphological, anatomical and biochemical studies on the foliar galls of *Alstonia scholaris* (Apocynaceae). Revista Brasileria Botanica 34(3) 343-358.

Arduin, M., Fernandes, G. and Kraus, J. (2005) Morphogenesis of galls induced by *Baccharopelma dracunculifolia*e (Hemiptera: Psyllidae) on *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae) leaves. Brazilian Journal of Biology 65(4): 559-571.

Arimura, G., Matsui, K. and Takabayashi, J. (2009) Chemical and molecular ecology of herbivore-induced plant volatiles: proximate factors and their ultimate functions. Plant and Cell Physiology 50(5): 911-923.

Berlyn, G. P., Miksche, J. P. and Sass, J. E. (1976) Botanical microtechnique and cytochemistry. Iowa State University Press, Chicago.

Chisholm, S. T., Coaker, G., Day, B. and Staskawicz, B. J. (2006) Host-microbe interactions: Shaping the evolution of the plant immune response. Cell 124(4): 803-814.

Cranshaw, W. and Shetlar, D. (2017) Garden Insects of North America. 2nd edition, Princeton University Press, Princeton.

Crespi, B. and Worobey, M. (1998) Comparative analysis of gall morphology in Australian gall thrips: The evolution of extended phenotypes. Evolution 52(6): 1686-1696.

Dorchin, N., Freidberg, A. and Aloni, R. (2002) Morphogenesis of stem gall tissues induced by larvae of two *Cecidomyiid* species (Diptera: Cecidomyiidae) on *Suaeda monoica* (Chenopodiaceae). Canadian Journal of Botany 80(11): 1141-1150.

Du, Y. P., Wang, Z. S. and Zhai, H. (2011) Grape root cell features related to phylloxera resistance and changes of anatomy and endogenous hormones during nodosity and tuberosity formation. Australian Journal of Grape and Wine Research 17(3): 291-297.

Forneck, A., Kleinmann, S. and Blaich, R. (2002) Histochemistry and anatomy of *phylloxera* (Daktulosphaira vitifoliae) nodosities on young roots of grapevine (*Vitis* sp). Journal of Grapevine Research 41(2): 93-97.

Gutschick, V. P. (1999) Biotic and abiotic consequences of differences in leaf structure. The New Phytologist 143(1): 3-18.

Hadavi, M., Montasser Kohssari, S. and Sariri, R. (2010) Electrophoretic changes and peroxidase activities in infected and uninfected Ahmadaghaii Pistachio Seedlings (*Pistacia vera* L.) with *Aspergillus niger* from Rafsanjan. Iranian Journal of Plant Biology 2: 21-30.

Howe, G. A. and Jander G. (2008) Plant immunity to insect herbivores. The Annual Review of Plant Biology 59: 41-66.

Louis, J. and Shah, J. (2013) Arabidopsis thaliana Myzus persicae interaction: shaping the understanding of plant defense against phloem-feeding aphids. Frontiers in Plant Science 4: 213-220.

Malenovský, I. and Jerinić-Prodanovic, D. (2011) A revised description of Psyllopsis repens Loginova, 1963 (Hemiptera: Psylloidea: Psyllidae), with first records from Europe. Archives of Biological Sciences 63(1): 275-286.

Maneva, V., Lecheva, I., Vassilev, A. and Semerdjieva, I. (2009) Changes in the photosynthetic performance of infested leaves of two barley cultivars by aphids. Field Crop Production 1: 831-838.

Martoni, F., Burckhardt, D. and Armstrong,

K. F. (2016) An annotated checklist of the psyllids of New Zealand (Hemiptera: Psylloidea). Zootaxa 29(4): 556-574.

Moura, M. Z. D., Soares, G. L. G. and Santos Isaias, R. M. (2008) Species-specific changes in tissue morphogenesis induced by two arthropod leaf gallers in *Lantana camara* L. (Verbenaceae). Australian Journal of Botany 56(2): 153-160.

Mozafarian, V. (2006) A dictionary of Iranian plant names. Farhang Mosavar Publication, Tehran.

Nabity, P. D., Haus, M. J., Berenbaum, M. R. and DeLucia, E. H. (2013) Leaf-galling phylloxera on grapes reprograms host metabolism and morphology. Proceedings of the National Academy of Sciences 110(41): 16663-16668.

Oliveira, D. and Isaias, R. (2010) Redifferentiation of leaflet tissues during midrib gall development in *Copaifera langsdorffii* (Fabaceae). South African Journal of Botany 76(2): 239-248.

Price, P. W., Fernandes, G. W. and Waring, G. L. (1987) Adaptive nature of insect galls. Environmental Entomology 16(1): 15-24.

Rajabi Mazhar, N. and Sadeghi, S. (2006) Studying biology of Psyllopsis repens Lo. and identification of its natural enemies in Hamadan Province. In: Proceedings of the 17th Iranian Plant Protection Congress, Karaj, Iran.

Raman, A. (2003) Cecidogenetic behavior of some gall-inducing thrips, psyllids, coccids, and gall midges, and morphogenesis of their galls. Oriental Insects 37(1): 359-413.

Sá, C. E., Silveira, F. A. O., Santos, J. C., Isaias, R. S. and Fernandes, G. W. (2009) Anatomical and developmental aspects of leaf galls induced by *Schizomyia macrocapillata* Maia (Diptera: Cecidomyiidae) on *Bauhinia brevipes* Vogel (Fabaceae). Brazilian Journal of Botany 32(2): 319-327.

Scareli-Santos, C., Padua-Teixeira, S. and Varanda, E. (2008) Anatomy of foliar galls of Pouteria torta (Sapotaceae) induced by *Youngomyia* sp. nov. (Diptera, Cecidomyiidae). Phytomorphology 58: 139-144.

Souza, S., Kraus, J. and Isaias, R. (2000). Anatomical and ultrastructural aspects of leaf galls in *Ficus microcarpa* LF (Moraceae) induced by Gynaikothrips ficorum Marchal (Thysanoptera). Acta Botanica Brasilica 14: 57-69.

Steppuhn, A. and Baldwin, I. T. (2007) Resistance management in a native plant: nicotine prevents herbivores from compensating for plant protease inhibitors. Ecology Letter 10: 499-511.

Stone, G. N. and Schönrogge, K. (2003) The adaptive significance of insect gall morphology. Trends in Ecology and Evolution 18(10): 512-522.

War, A. R., Paulraj, M. G., Ahmad, T., Buhroo, A. A., Hussain, B., Ignacimuthu, S. and Sharma, H. C. (2012) Mechanisms of plant defense against insect herbivores. Plant Signaling and Behavior 7(10): 1306-1320.

Wardle, P. (1961) Biological Flora of the British Isles*: Fraxinus excelsior* L. Journal of Ecology 49, 739-751.

Will, T. and Vilcinskas, A. (2015) The structural sheath protein of aphids is required for phloem feeding. Insect Biochemistry and Molecular Biology 57: 34-40.

Wool, D. and Bar-El, N. (1995) Population ecology of the galling aphid Forda formicaria von Heyden in Israel: abundance, demography, and gall structure. Israel Journal of Zoology 41(2): 175-192.

Zucker, W. V. (1982) How aphids choose leaves: the roles of phenolics in host selection by a galling aphid. Ecology 63(4): 972-981.