

Evaluation of Chitosan, Gamma-Aminobutyric Acid and Potassium Silicate on Some Biochemical Parameters of Pistachio Tree to Induce Resistance against Pistachio Psyllid (*Agonoscena pistaciae*)

Hoda Ghasemi Nejad Rayeni¹, Maryam Pahlavan Yali^{ID}*² and Maryam Bozorg Amir-Kalaei³

1 and 2- MSc Student, Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Shahid bahonar university of Kerman, Kerman, Iran

3- PhD in Entomology of Mohaghegh Ardabili University respectively.

*Corresponding author, E-mail: pahlavanm@uk.ac.ir

<https://doi.org/10.22067/jpp.2025.91135.1212>

Introduction

Pistachio (*Pistacia vera* L.), is a small tree native to Iran and Central Asia, grown for its edible seeds. The pistachio nut is an important export product and has a special value among agricultural products. The pistachio psylla, *Agonoscena pistaciae* Burckhardt and Lauterer (Hemiptera, Psyllidae), is one of the key pests of pistachio trees. It is distributed in Turkey, Greece, Iran, Armenia, and Tajikistan. In both adult and nymphal stages, it directly damages trees by absorbing plant sap. Moreover, psyllids are usually involved in the transmission of pathogens and cause significant losses to the host.

In recent years, researchers have been interested in finding efficient and environmentally friendly methods to prevent biotic agents that damage plants, such as the application of potential ISR elicitors. Natural or synthetic elicitors make induced systemic resistance (ISR). The stimulation of the same plant defense mechanisms by specific inducing agents (elicitors) is an alternative tool to protect plants against pests. Elicitors can influence the secondary metabolite contents in plants in response to herbivores and induce defense mechanisms, thereby increasing the resistance of plants against pests. Further, secondary metabolites can affect oxidative stress through producing free radicals and modifying the antioxidant enzyme systems. Catalase and peroxidase enzymes play an important role in the defense system of plants. Thus, the present research was conducted to evaluate the effects of chitosan, gamma-aminobutyric acid and potassium silicate on the contents of secondary metabolites and biochemical compounds in pistachio leaves and the resultant effects on pest population control.

Materials and Methods

The field experiments were conducted on 30-year-old pistachio trees (cv. Fandoghi) in a 1-hectare orchard located in Najaf Shahr, Sirjan, Kerman, Iran during 2023. In this research, the effect of various compounds including chitosan (0.5%), potassium silicate (2%), and gamma-aminobutyric

acid (GABA) (10 mM) were studied on the population reduction rate of pistachio psyllid nymphs in field conditions. The distilled water was applied as control treatment. Furthermore, the amount of enzymatic and biochemical compounds including antioxidant enzymes (catalase and peroxidase), hydrogen peroxide, proline, total phenol and flavonoids in the leaves of the treated pistachio trees were determined. Finally, variables evaluated using the one-way analysis of variance in SPSS. Then, the Tukey test was done for mean comparisons.

Results and Discussion

In this study, spraying various compounds, especially chitosan on pistachio trees, reduced the population of psyllid nymphs. The control efficiency (%) of studied inducers showed an increasing trend in treatments of GABA (23.76%), potassium silicate (34.39%) and chitosan (46.23%), respectively.

In our study, no significant difference was observed in the flavonoid contents among different treatments. Indeed, the level of total phenol in the chitosan treatment was significantly higher than others. Therefore, the difference in the control effect percentage of psyllid nymph population between the tested treatments can be related to the presence of phenolic compounds and other secondary metabolites. Some studies have proved a negative correlation between the presence of phenolic compounds in the host plant and the population of insects. On the other hand, pistachio trees treated with different compounds in terms of hydrogen peroxide, proline, enzymes of catalase and peroxidase showed a significant difference. The highest amounts of catalase and peroxidase enzymes were significantly observed in trees treated with chitosan (1.73 and 0.031, respectively). Peroxidase and catalase enzymes are important antioxidants which destroy free radicals. Also, the highest and lowest amount of proline was significantly recorded in the control (52.48) and chitosan (42.40) treatments, respectively. In addition, the amount of hydrogen peroxide in the GABA treatment (128.71) was significantly higher than other treatments, which related to the peroxidase enzyme (0.016) decrease in the plant. Peroxidase enzyme is activated by biological stress and plays an important role in protecting the cell against different toxic concentrations of hydrogen peroxide. The findings of this research showed the lower population of psyllid nymphs in chitosan treatment was related to the higher relative content of phenol and more activity of antioxidant enzymes (catalase and peroxidase) in pistachio trees.

Conclusions

This study showed that treatment of pistachio trees with different plant resistance inducers, especially chitosan, causes physiological changes in the plant and subsequently the reduction of pistachio psyllid damage. After complementary tests on the quality and quantity of the product, these compounds can be used in integrated management programs of *A. pistaciae* to minimize the use of insecticides.

Keywords: Antioxidant enzymes, *A. pistaciae*, Control effect, Inducer, Total phenol

ارزیابی تاثیر کیتوزان، گاما آمینو بوتیریک اسید و سیلیکات پتاسیم بر برخی شاخص‌های بیوشیمیایی
درخت پسته جهت القاء مقاومت در برابر پسیل پسته، *Agonosцена pistaciae*

هدی قاسمی نژاد راینی^۱، مریم پهلوان یلی^{۲*} و مریم بزرگ امیر کلایی^۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۹/۲۱

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۲/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۱۳

۱ و ۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیار گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
۳- دکترای حشره شناسی، گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

*مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: pahlavanm@uk.ac.ir

<https://doi.org/10.22067/jpp.2025.91135.1212>

چکیده

پسته از مهم ترین محصولات باغی در ایران محسوب می شود که ارزش اقتصادی زیادی دارد. یکی از مشکلات موجود در کشت پسته، حمله آفاتی مانند پسیل پسته، *Agonoscena pistaciae* Burckhardt and Lauterer (Hemiptera: Psyllidae) است که می تواند خسارت جدی در باغ های این محصول ایجاد کند. این پژوهش در یک باغ پسته یک هکتاری واقع در نجف شهر کرمان روی درختان بالغ ۳۰ ساله پسته رقم فندقی در سال ۱۴۰۲ انجام شد. در این تحقیق اثر چند ترکیب القاگر مقاومت گیاهان به آفات شامل کیتوزان (نیم در صد)، سیلیکات پتا سیم (دو درصد) و گاما آمینو بوتیریک اسید (گابا، ۱۰ میلی مولار) روی نرخ کاهش جمعیت پوره های پسیل پسته در شرایط میدانی محاسبه شد. از آب مقطر نیز به عنوان شاهد استفاده شد. همچنین تاثیر این ترکیبات روی برخی آنزیم های آنتی اکسیدانی (کاتالاز و پراکسیداز)، ترکیبات ثانویه و بیوشیمیایی برگ درختان پسته پس از تهیه مطالعه شد. در این پژوهش داده ها با آزمون One-way ANOVA تجزیه واریانس و با آزمون توکی مقایسه میانگین شدند. بر اساس نتایج، میزان کارایی القاگرهای مورد مطالعه در کنترل پسیل در تیمارهای کیتوزان ۴۶/۲۳ در صد، سیلیکات پتا سیم ۳۴/۳۹ در صد و گابا ۲۳/۷۶ در صد بود. میزان فنل کل در برگ گیاه در تیمار کیتوزان (۵۵/۹۳ میلی گرم بر گرم وزن خشک) در مقایسه با تیمارهای دیگر به طور معنی داری بیشتر بود. بیشترین مقدار آنزیم های آنتی اکسیدانی گیاه (کاتالاز و پراکسیداز) نیز با یک ارتباط معنی دار در درختان تیمار شده با کیتوزان (به ترتیب ۱/۷۳ و ۰/۳۱ واحد آنزیمی بر میلی گرم پروتئین در دقیقه) مشاهده شد. از طرفی دیگر، تاثیر منفی آب اکسیژنه در تیمار گابا (۱۲۸/۷۱ میکرومول بر گرم وزن خشک) به طور معنی داری در مقایسه با تیمارهای دیگر بیشتر بود که با کاهش مقدار آنزیم پراکسیداز گیاه (۰/۰۱۶) مرتبط بود. نتایج این

تحقیق بیانگر آن است که کاربرد ترکیبات مختلف به عنوان عامل القاکننده مقاومت باعث تغییر در میزان تولید عوامل دفاعی آنزیمی و غیر آنزیمی در گیاه میزبان شده که می تواند منجر به بروز مقاومت گیاه نسبت به آفت پسیل پسته شود. در این میان درختان تیمار شده با کیتوزان، کمترین جذابیت را برای پسیل پسته داشتند. برای کاربردی شدن مصرف این ترکیبات لازم است آزمایش های تکمیلی در زمینه تاثیر احتمالی بر کیفیت و کمیت محصول صورت بگیرد.

۶ واژگان کلیدی: مقاومت گیاهان، القاگر مقاومت، آنزیم های آنتی اکسیدانی

۷ مقدمه

۸ پسته (*Pistacai vera* L.) به عنوان یک محصول مهم صادراتی جایگاه خاصی را بین تولیدات کشاورزی دارا می باشد. ۹ پسیل پسته، *Agonosцена pistaciae* Burckhardt and Lauterer (Hemiptera: Psyllidae)، در حال حاضر آفت ۱۰ کلیدی و خسارت زای باغ های پسته در ایران به شمار می رود (Tahami Zarandi et al., 2022). این آفت بسته به شرایط ۱۱ آب و هوایی دارای چندین نسل در سال بوده و خسارت آفت مربوط به تغذیه ی پوره ها و حشرات کامل از شیریه ی گیاهی است ۱۲ که موجب ضعف گیاهی، زردی برگ ها، ریزش جوانه ها و برگ ها می شود (Mahmoudi Meimand & Ghanbari Adivi, 2013; Mehrnejad, 2001).

۱۴ پسیل پسته بلافاصله پس از تورم و باز شدن جوانه های پسته در روزهای اول بهار شروع به فعالیت کرده و جمعیت آن ۱۵ به طور معمول خیلی سریع افزایش می یابد. وجود تراکم شدید جمعیت حشره هم زمان با شروع مغز بستن و یا پس از آن، ۱۶ موجب اختلال در روند پرشدن مغز شده و در نتیجه خسارت جبران ناپذیری به محصول پسته وارد می شود، به طوری که گاهی ۱۷ محصول هشت سال متوالی را تحت تاثیر قرار می دهد (Tahami Zarandi et al., 2022). باغ داران پسته به طور مداوم با ۱۸ به کارگیری آفت کش ها برای مهار خسارت آفت گاهی درختان پسته را تا هشت بار در سال سمپاشی می کنند. بنابراین، گسترش ۱۹ و طغیان این آفت بازنگری در کنترل شیمیایی برای کاهش میزان مصرف آفت کش ها را ضروری می سازد (Rouhani and Samih., 2012; Shabani et al., 2011). ۲۰ جست وجو برای روش های جدید جایگزین و دوست دار محیط زیست به ویژه ۲۱ در زمینه ی القای مقاومت گیاهان به تنش های زنده و غیرزنده از فاکتورهای کلیدی در کشاورزی پایدار است (Justyna et al., 2013). ۲۲ استفاده از ترکیبات القاکننده مقاومت گیاهان به آفات که از یک سو سبب فعال سازی مکانسیم های دفاعی گیاه ۲۳ قبل از رویارویی با آفات و بیماری ها شود و از سوی دیگر خطرات زیست محیطی کمتری داشته باشد، در سال های اخیر مورد ۲۴ توجه محققان قرار گرفته است (Toscano & Prabhaker, 2011).

۲۵ تغذیه حشرات، یک سری تغییرات شیمیایی در گیاهان ایجاد می کند که بیشتر این تغییرات بخشی از واکنش های دفاعی ۲۶ گیاه به آسیب حاصل از حشرات است. هر گونه تنش که منجر به اختلال در وضعیت طبیعی اکسیداسیون (سوخت و ساز) از ۲۷ طریق تولید پراکسیدها و رادیکال های آزاد که منتج به تولید ترکیبات سمی و آسیب به تمامی اجزاء و ساختارهای درون ۲۸ سلولی، از جمله پروتئین ها و لیپیدها شود، تنش یا استرس اکسیداتیو گفته می شود. میزان آسیب سلول های گیاهی تحت

تنش‌های مختلف به میزان تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و رادیکال‌های آزاد و مکانیسم‌های غیرفعال‌سازی این ترکیبات در گیاه وابسته است (Saed-Moucheshi et al., 2023). یک سامانه دفاع آنتی اکسیدانی با اثربخشی بالا برای رویارویی با تنش‌های اکسیداتیو در گیاهان یافت شده است که می‌تواند رادیکال‌های آزاد را از بین برده، جاروب و یا خنثی کند. سیستم‌های آنتی اکسیدانی می‌تواند به‌صورت آنزیمی شامل آنزیم‌های کاتالاز، فنل پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز و گایاکول پراکسیداز و یا غیرآنزیمی نظیر ترکیبات فنلی، کاروتنوئیدها، پرولین، گلوتاتیون، آسکوربات و آلفاتوکوفرول عمل کند (Shahid et al., 2014). ترکیبات ثانویه گیاهی نیز نقش مهمی در مقاومت و دفاع گیاه در برابر آفات و بیماری‌ها دارند (Todd et al., 1971; War et al., 2020). گیاهان فنل‌ها را در واکنش به برخی مواد پیام‌رسان که در دفاع گیاه نقش دارند، آزاد می‌کنند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه به طور مستقیم با میزان فنل کل مرتبط است (Ghasemzadeh et al., 2010). همچنین فلاوونوئیدها به‌عنوان ترکیبات کشنده، دور کننده و ضد تغذیه حشرات محسوب می‌شوند (Bernays et al. 1989).

ترکیباتی همچون کیتوزان، گاما آمینوبوتیریک اسید و سیلیکات پتاسیم می‌توانند مکانیسم‌های دفاعی گیاهان را در برابر حمله عوامل زنده فعال کنند (El Hadrami et al., 2010, Wang et al., 2014). کیتوزان یک بیوپلیمر غیر سمی است که واکنش‌های دفاعی را در گیاه تحریک می‌کند و در نتیجه باعث ایجاد موانع فیزیکی و شیمیایی در برابر حملات حشرات آفت می‌شود (Katiyar et al., 2015). این ترکیب واکنش‌های دفاعی مانند لیگنیکاسیون، تولید گونه‌های اکسیژن فعال، بیوسنتز فیتوالکسین، اسیدی شدن سیتوپلاسمی و بیوسنتز اسید جاسمونیک را در گیاهان تحت شرایط تنش زیستی القا می‌کند (El Hadrami et al., 2010). کیتوزان می‌تواند مکانیسم‌های دفاعی از جمله آنزیم‌های مختلف در برابر شرایط نامطلوب را تحت تاثیر قرار دهد (Katiyar et al., 2015). بر اساس گزارش‌ها، کیتوزان فعالیت حشره‌کشی روی شته زرد *Aphis nerii*، کرم برگ‌خوار پنبه *Spodoptera littoralis* (Badawy and El-Aswad, 2012)، بید گوجه‌فرنگی *Tuta absoluta* (Sabbour & Abdel-Hakim, 2018) و شپشک سیاه زیتون *Saissetia oleae* (Sabbour, 2019) نشان داده است.

گاما آمینو بوتیریک اسید (GABA) یک آمینو اسید غیر پروتئینی چهار کربنه طبیعی است که معمولاً در قارچ‌ها، باکتری‌ها، جلبک‌ها و گیاهان عالی شناسایی می‌شود (Jin et al., 2019). گابا به عنوان یک مولکول سیگنال‌دهنده یا متابولیت در برخی مسیرهای فیزیولوژیکی گیاه تحت شرایط تنش فعال می‌شود (Bao et al., 2015; Lang et al., 2016; Zhen et al., 2018). گابا از طریق تجزیه پلی آمین‌ها یا دکربوکسیلاسیون گلوتامات متابولیزه می‌شود (Wang et al., 2014). همچنین کاربرد خارجی گابا به‌طور قابل توجهی محتویات فنلی گیاه را افزایش داد (Wang et al., 2014). تنش شوری قلیایی را با بیوسنتز کلروفیل و همچنین تنظیم سیستم آنتی‌اکسیدانی بهبود بخشید (Jin et al., 2019).

رشد گیاه ارتباط نزدیکی با خواص فیزیکی خاک دارد (Gliński, 2011). سیلیسیوم دومین عنصر فراوان در خاک است. بیشتر منابع سیلیسیوم نامحلول و برای گیاه غیر قابل دسترس هستند (Balakhnina, 2013). سیلیکات پتاسیم به

عنوان یک محرک گیاهی و منبع پتاسیم و سیلیسیوم بسیار محلول استفاده می شود (Hafez et al., 2021). شواهدی وجود دارد که نشان می دهد سیلیسیوم در مقاومت گیاه به آفات با تاثیر روی نشو و نما (Assis et al., 2015)، زیست شناسی، رفتار تغذیه (Aparecida De Assis et al., 2012) و تولید مثل (Pereira et al., 2010) حشره دخیل است. همچنین مطالعات مختلف نقش سیلیکات پتاسیم را در کاهش تنش گیاه نشان داده اند (Chen et al., 2016, Gomaa et al., 2021, Abdou et al., 2022). برخی گزارش ها پیشنهاد کرده اند که سیلیکات پتاسیم با افزایش فعالیت آنتی اکسیدان های آنزیمی در طول تنش شوری، عملکرد غشای پلاسمایی را حفظ می کند (Gomaa et al., 2021; Hafez et al., 2021). به طور کلی مطالعات انجام شده نشان داده اند که کاربرد القاگرهای مقاومت می تواند تاثیر قابل توجهی در مقاومت گیاهان نسبت به آفات مختلف داشته باشد که ممکن است به دلیل تقویت ساختار سلولی، فعال سازی مکانیسم های دفاعی و ایمنی گیاه و در نتیجه افزایش مقاومت درختان در برابر شرایط تنش باشد. همچنین ترکیبات القاگر با فعال کردن مکانیسم های دفاعی مختلف در گیاه موجب می شوند متابولیت های ثانویه در سطوح متفاوت بسته به مسیر مقاومت فعال شده در گیاه تولید شود (Bidart-Bouzat & Imeh-Nathaniel, 2008). هدف از این مطالعه کارایی ترکیبات القاگر مقاومت درختان پسته جهت کنترل جمعیت پوره های پسیل *A. pistaciae* با افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی گیاه و تغییر متابولیت های ثانویه آن است که می تواند در برنامه های مدیریت تلفیقی این آفت در باغات پسته مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روش ها

این پژوهش در یک باغ پسته به مساحت یک هکتار واقع در نجف شهر سیرجان (کرمان، ایران) روی درختان بالغ ۳۰ ساله پسته رقم فندقی در سال ۱۴۰۲ انجام شد. در این پژوهش کارایی محلول پاشی کیتوزان (نیم درصد، سیگا آلدريج)، سیلیکات پتاسیم (دو درصد، مرک آلمان) و گاما آمینو بوتیریک اسید (گابا) (۱۰ میلی مولار، سیگما آلدريج) روی کنترل جمعیت پسیل پسته در شرایط میدانی بررسی شد. از آب مقطر نیز به عنوان شاهد استفاده شد. علاوه بر این پارامترهای بیوشیمیایی، آنزیمی، میزان فلاوونوئید و فنل کل برگ درختان پسته در آزمایشگاه با روش اسپکتروفوتومتری بررسی شد. در این مطالعه، آزمایش ها بر اساس طرح کاملا تصادفی انجام شدند. همچنین در سنجش فنل کل از اسید گالیک (یک فنولیک اسید و از ایزومرهای تری هیدروکسی بنزوئیک اسید) و در سنجش فلاوونوئید از کوئرستین (یک فلاونول گیاهی از گروه فلاونوئیدی پلی فنل ها) به عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد.

کارایی ترکیبات القاگر در کنترل جمعیت پسیل پسته

برای انجام آزمایش، ۱۰ درخت برای هر یک از تیمارها (کیتوزان، سیلیکات پتاسیم، گابا و آب به عنوان شاهد) که از نظر جمعیت پوره پسیل در آستانه زیان اقتصادی (۵ تا ۱۰ پوره به ازاء هر برگچه) قرار گرفته بودند، انتخاب شد. درختان انتخاب شده با نوشتن کد و گره زدن روبان به آن ها علامت گذاری شدند تا ترکیب پاششی روی هر درخت مشخص شود. **آنگاه** از

هر درخت پنج شاخه در جهات شرق، غرب، شمال، جنوب و مرکز درخت که هر شاخه دارای حداقل ۱۰ برگ بود، برای پاشش ترکیبات مورد آزمایش نشانه‌گذاری شد. در این آزمایش، ۵۰ نمونه یا تکرار برای هر یک تیمارها (یک برگ از هر شاخه در هر یک از جهات هر درخت) در نظر گرفته شد. محلول‌پاشی‌ها، ۵:۳۰ تا ۶:۳۰ صبح با سم‌پاش پستی (مدل SR420 Stihl Inc) انجام شد. نمونه‌برداری در این آزمایش، یک روز قبل از پاشش و هفت روز بعد از پاشش ترکیبات مورد مطالعه روی درختان پسته انجام شد. در مرحله نمونه‌برداری قبل از پاشش و بعد از پاشش، از هر شاخه روبان زده یک برگ مشابه از نظر اندازه چیده شد و داخل پاکت فریزر با ذکر کد و مشخصات گذاشته شد. به‌همین ترتیب از همه درختان مشخص شده، نمونه برداری صورت گرفت. نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل و جمعیت پوره‌های پسیل توسط بینوکولار شمارش شدند. بعد از اتمام شمارش، تمام داده‌ها وارد نرم افزار Excel ۲۰۱۶ شد. در انتها با استفاده از فرمول هندرسون-تیلتون (Henderson and Tilton, 1995) درصد کارایی کنترل ترکیبات مختلف روی پوره‌های پسیل پسته محاسبه شد.

$$\text{Control effect (\%)} = (T-C)/(1-C)*100 \%$$

T و C به ترتیب درصد کاهش جمعیت حشره در گیاه تیمار شده با القاگر و شاهد

تعیین پارامترهای بیوشیمیایی برگ گیاه پسته

اندازه گیری مقدار فنل کل

برای اندازه گیری فنل کل یک گرم از نمونه برگ تازه گیاه در ۲۰ میلی لیتر متانول ساییده و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی نگهداری شد. سپس سانتریفوژ با دور ۱۰ هزار به مدت ۵ دقیقه انجام شد. آن گاه ۰/۴ میلی لیتر معرف فولین ۵۰ درصد و ۰/۸ میلی لیتر کربنات سدیم ۵ درصد به ۰/۲ میلی لیتر عصاره برگ اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۲ ساعت در تاریکی نگهداری و سپس درصد جذب هر نمونه در طول موج ۷۶۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل SPUV-26 خوانده شد (Soland and Laima, 1999). مقدار فنل کل به صورت معادل میلی گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک گیاه محاسبه شد. این سنجش برای عصاره‌های گیاهی تحت هر تیمار در سه تکرار انجام شد.

اندازه گیری مقدار فلاوونوئید کل

بدین منظور ۵۰۰ میکرولیتر از نمونه با ۷۵ میکرولیتر NaNO_2 (۵ درصد) مخلوط و بهم زده شد و ترکیب حاصل به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. در مرحله بعد ۱۵۰ میکرولیتر AlCl_3 (۱۰ درصد) اضافه و بهم زده شد. آن گاه ۵۰۰ میکرولیتر سود یک مولار و ۲۷۵ میکرولیتر آب مقطر استریل به آن اضافه شد. در نهایت درصد جذب هر نمونه در طول موج ۵۱۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل SPUV-26 خوانده شد. مقدار فلاوونوئید کل به صورت معادل میلی گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک گیاه محاسبه شد (Zhishen et al., 1999). ارزیابی هر کدام از عصاره‌های گیاهی مورد آزمایش در سه تکرار انجام شد.

استخراج و سنجش پرولین

مقدار پرولین با استفاده از روش بیتز و همکاران (Bates et al., 1973) اندازه‌گیری شد. در این روش ۰/۳ گرم از بافت گیاه با اسید سولفوسالسیلیک ۳ در صد سائیده شد، تا مخلوط یکنواختی حاصل شود و سپس به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. محلول حاصل به مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه نگهداری و در مرحله بعد، به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. ۲ میلی‌لیتر از محلول رویی، به اضافه ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال و ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین به مدت یک ساعت در حمام آب گرم در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد قرار گرفت. بعد از گذشت یک ساعت زمانی که محلول سرد شد، ۴ میلی‌لیتر تولوئن به محلول اضافه و در حدود ۲۰ ثانیه با استفاده از دستگاه مخلوط کن هم‌زده شد. سپس لوله های آزمایش را برای مدتی ثابت نگه داشته تا دو فاز کاملاً از هم جدا گردد. فاز آلی به رنگ صورتی در بالا و فاز آبی بی‌رنگ و شفاف در زیر فاز آلی تشکیل که از فاز آلی جهت رنگ‌سنجی استفاده شد. جذب نوری محلول در ۵۲۰ نانومتر با استفاده از تولوئن به عنوان شاهد خوانده و با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت پرولین در محلول محاسبه شد.

استخراج و سنجش آب اکسیژنه (H_2O_2)

برای اندازه‌گیری میزان آب اکسیژنه، از روش ولیکوا (Velikova, 2000) استفاده شد. برای این منظور، ۵۰۰ میلی گرم از بافت برگ را با ۵ میلی‌لیتر تری‌کلرو استیک اسید ۰/۱ درصد (v/w) در حمام یخ، ساییده تا هموژن شوند. آن‌گاه، همگن‌های حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۱۲۰۰۰ سانتریفوژ شد. ۵/۵ میلی‌لیتر از روشناور را برداشته و ۰/۵ میلی‌لیتر از بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار با pH=7 و ۱ میلی‌لیتر یدوپتاسیم ۱ مولار به آن اضافه شد. در نهایت، جذب نمونه در طول موج ۳۹۰ نانومتر خوانده شد و سپس با استفاده از منحنی استاندارد، مقدار H_2O_2 در نمونه محاسبه شد.

سنجش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز در گیاه

تهیه عصاره آنزیمی: یک گرم بافت گیاه درون لوله اپندورف به همراه متانول ساییده شد. سپس ۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=7) به آن اضافه و به مدت نیم ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با تکان‌های ملایم استخراج شد. ترکیب حاصل در دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ rpm سانتریفوژ شد و از محلول شفاف رویی برای انجام آزمایش‌های سنجش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز گیاه استفاده شد.

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز: فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از روش پل و همکاران (Polle et al., 1997) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش حاوی ۲۴۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار، ۱۰۰ میکرولیتر گایاکول ۱۸ میلی‌مولار، ۱۰۰ میکرولیتر از پراکسید هیدروژن و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی در لوله آزمایش ریخته

شد. جذب نمونه بر اساس اکسیداسیون گایاکول با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر به مدت ۲ دقیقه در طول موج ۴۳۶ نانومتر خوانده شد. از محلول واکنش بدون عصاره جهت صفر کردن دستگاه استفاده شد. همچنین از فرمول زیر به منظور اندازه گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز استفاده گردید.

$$\text{فعالیت آنزیم پراکسیداز} = \text{جذب خوانده شده تقسیم بر عدد } 26/6.$$

در فرمول فوق الذکر، جذب خوانده شده معادل میزان تترایاکول تولید شده در یک دقیقه و ۲۶/۶ ضریب خاموشی آنزیم پراکسیداز بر حسب $\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$ در نظر گرفته شد.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز: فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از روش کاماک و مارشنر (Cakmak and

Marschner, 1992) بصورت زیر اندازه گیری شد. مقدار ۲۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی به همراه ۴۰۰ میکرولیتر

از محلول بافر فسفات سدیم ۲۵ میلی مولار و ۳۰۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن مخلوط شد. سپس در طول موج ۲۴۰

نانومتر، سرعت حذف پراکسید هیدروژن به مدت ۲ دقیقه اندازه گیری شد. میزان فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی

$$\text{با } 39/4 \text{ mM}^{-1} \text{cm}^{-1} \text{ استفاده از فرمول زیر بر اساس سرعت مصرف آب اکسیژنه در دقیقه محاسبه شد.}$$

$$\text{اختلاف جذب با شاهد تقسیم بر } 39/4 \text{ ضربدر } 100 = \text{فعالیت آنزیم کاتالاز}$$

تجزیه و تحلیل داده ها

در این پژوهش داده ها با آزمون One-way ANOVA در نرم افزار SPSS ver 26 تجزیه واریانس شدند. در ضمن قبل از تجزیه آماری، آزمون نرمال بودن داده ها با استفاده از روش کلموگروف-اسمیرنوف انجام شد. در صورت عدم نرمال بودن توزیع داده ها، از روش های مختلف تبدیل داده ها برای یکنواختی واریانس داده ها استفاده شد. مقایسه میانگین داده ها با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج

کارایی ترکیبات القاگر در کنترل جمعیت پسیل پسته

در این مطالعه، اختلاف معنی داری بین کارایی ترکیبات القاگر مورد آزمایش در کنترل جمعیت پسیل پسته وجود داشت (جدول ۱). بیشترین درصد تاثیر در تیمار کیتوزان و کمترین آن در تیمار گابا مشاهده شد (جدول ۱). بر اساس نتایج حاصل، کارایی القاگرهای مورد مطالعه در کنترل پسیل به ترتیب در تیمارهای گابا (۲۳/۷۶ درصد)، سیلیکات پتاسیم (۳۴/۳۹ درصد) و کیتوزان (۴۶/۲۳ درصد) روند افزایشی نشان داد.

جدول ۱ مقایسه میانگین ($\pm SE$) درصد تاثیر تیمارهای مختلف روی جمعیت پسیل پسته پس از هفت روز (تیر ماه ۱۴۰۲)

Table 1. Mean ($\pm SE$) percentage of the effect of different treatments on pistachio psyllid population

Treatment	Control effect (%)
-----------	---------------------

تیمارهای شاهد (۵۲/۴۸ میکرومول بر گرم وزن تر) و کیتوزان (۴۲/۴۰ میکرومول بر گرم وزن تر) به صورت معنی دار مشاهده شد (جدول ۳). بیشترین مقدار آنزیم کاتالاز با یک اختلاف معنی دار در درختان تیمار شده با کیتوزان (۱/۷۳ واحد انزیمی/دقیقه در میلی گرم پروتئین) مشاهده شد. همچنین مقدار این آنزیم در تیمار گابا به طور معنی دار در مقایسه با شاهد و سیلیکات پتاسیم بیشتر و در مقایسه با کیتوزان کمتر بود (جدول ۳). بیشترین و کمترین مقدار آنزیم پراکسیداز به ترتیب در تیمارهای کیتوزان (۰/۳۱ واحد انزیمی/دقیقه در میلی گرم پروتئین) و گابا (۰/۱۶ واحد انزیمی/دقیقه در میلی گرم پروتئین) مشاهده شد.

جدول ۳- مقایسه میانگین $\pm$ خطای استاندارد مقادیر پراکسید هیدروژن، پرولین، آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز در برگ درختان پسته تحت تیمارهای مختلف
Table 3- Comparison of mean $\pm$ SE of hydrogen peroxide, proline, catalase and peroxidase enzymes in pistachio leaves under different treatments

Treatments تیمارها	Hydrogen Peroxide ($\mu\text{M g}^{-1}\text{dW}$)	Proline ($\mu\text{M g}^{-1}\text{FW}$)	Catalase ($\text{Umin}^{-1}\text{mg}^{-1}\text{protein}$)	Peroxidase ($\text{Umin}^{-1}\text{mg}^{-1}\text{protein}$)
Control	96.21 $\pm$ 1.46b	52.48 $\pm$ 0.18a	0.49 $\pm$ 0.07c	0.029 $\pm$ 0.001b
γ amino butyric acid	128.71 $\pm$ 4.52a	49.47 $\pm$ 0.15b	1.17 $\pm$ 0.07b	0.016 $\pm$ 0.001c
Chitosan	91.06 $\pm$ 2.90b	42.40 $\pm$ 0.19d	1.73 $\pm$ 0.15a	0.031 $\pm$ 0.002a
Potassium silicate	105.13 $\pm$ 3.69b	47.43 $\pm$ 0.12c	0.55 $\pm$ 0.15c	0.028 $\pm$ 0.001b

میانگین های با حروف متفاوت در هر ستون، تفاوت معنی داری در سطح احتمال پنج درصد دارند (آزمون توکی، $p < 0.05$)

Means followed by different letters in each column are significantly different (Tukey test, $P < 0.05$)

بحث

در این مطالعه پاشش ترکیبات مختلف بخصوص کیتوزان روی درختان پسته، جمعیت پوره های پسیل را تا حد قابل توجهی کنترل کردند. در واقع تیمار گیاهان با ترکیباتی که مسیرهای مقاومت را فعال می کنند باعث کاهش جمعیت آفت می شوند. ضیال دینی و همکاران (Ziaaddini et al., 2022) گزارش کردند تیمار درختان گلایی با کیتوزان موجب القای مقاومت در درخت و کاهش جمعیت پسیل گلایی شد که با نتایج ما در القای مقاومت توسط کیتوزان در درختان پسته نسبت به پسیل پسته مطابقت داشت. همچنین شاهرخی و همکاران (Shahrokhy et al., 2024) ثابت کردند القاگرهایی مانند گابا و کیتوزان دارای اثرات افزایشی قابل توجه در مقاومت ایجاد شده توسط مسیر سالیسیلیک اسید می باشند. تاثیر بالای کیتوزان در کنترل *A. pistaciae* می تواند با میزان آنزیم های آنتی اکسیدان و ترکیبات فنلی بالا در گیاه در ارتباط باشد. فنل ها ترکیبات ثانویه فعالی هستند که اثرات منفی روی نشوونما، تولیدمثل و رشد جمعیت حشرات دارند (Wójcicka, 2010). همچنین گزارش شده است بیان سطح بالای آنزیم های پلی فنل اکسیداز در ژنوتیپ های گوجه فرنگی باعث القای مقاومت گیاه به *Spodoptera litura* (F) (Lepidoptera: Noctuidae) شد که متعاقباً اکسیداسیون بالای فنل در این گیاه، کاهش کیفیت غذایی در شاخ و برگ ها و معنی دار شدن شاخص های تغذیه ای و رشدی آفت را به دنبال داشت (Mahanil et al., 2008).

گابا نیز در فرآیندهای مختلف فیزیولوژیکی گیاه به عنوان پیام رسان داخلی عمل می کند و میزان آن در اثر محرک ها و همچنین آسیب های مکانیکی افزایش می یابد (Bown et al., 2002). اصغری (Asghari, 2015) بیان کرد که گابا با جلوگیری از افزایش رادیکال های آزاد و همچنین با تحریک تولید آنتی اکسیدان هایی همچون آنزیم های کیتیناز و بتا ۱ و ۳ گلوکاناز به گیاه در مقابله با تنش کمک می کند. همچنین مطالعه ی دیگر نشان داده است که محلول پاشی گابا با تاثیری که روی تنظیم فعالیت آنزیم های فعال در متابولیسم اولیه نیتروژن و جذب نترات دارد، موجب القای مقاومت گیاه به تنش ها و افزایش رشد گیاه می شود (Barbosa et al., 2010). علاوه بر این، مقاومت ایجاد شده در درختان پسته توسط تیمار سیلیکات پتاسیم می تواند به دلیل کاهش سدیم و افزایش پتاسیم در اندام هایی هوایی گیاه (حسنوند و رضایی نژاد، ۱۳۹۶) و یا به علت رسوب زیاد سیلیسیوم که باعث افزایش استحکام بافت ها می شود، صورت بگیرد (Reynolds et al., 2009). مطالعات دیگر نیز کارایی موثر سیلیکات پتاسیم را در کنترل رشد جمعیت برخی آفات مانند *Bemisia tabaci* (Gennadius) روی خیار (Correa et al., 2005) و *Diabrotica speciosa* (Germar) روی سیب زمینی (Aparecida De Assis et al., 2012) گزارش کرده اند.

در مطالعه حاضر، تنش ایجاد شده در درختان به دلیل تغذیه پسیل از آوندهای آبکش، موجب فعال شدن مسیرهای متابولیکی تولید عوامل دفاعی غیر آنزیمی گیاه مانند پراکسید هیدروژن و پرولین شد. بنابراین می توان گفت تغذیه جمعیت اولیه پسیل از گیاه موجب القای ترکیبات دفاعی در درختان پسته برای جلوگیری از تنش ناشی از خسارت این حشره می شود؛ هرچند میزان این ترکیبات به حدی نباشد که بر هجوم حشره غلبه کند. همچنین نتایج این مطالعه نشان داد کاربرد ترکیبات مختلف به عنوان عامل القاکننده مقاومت سبب تغییر در میزان تولید عوامل دفاعی از جمله آنزیم های آنتی اکسیدانی در درختان پسته می شود. در شرایط مطلوب رشد گیاه، بین گونه های فعال اکسیژن تولید شده و مصرف آن ها توسط فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی گیاه هماهنگی پدید می آید (Hayyan et al., 2016).

در اکثر گیاهان افزایش پرولین در تنش های زیستی و غیرزیستی گزارش شده است که می تواند منجر به حفاظت از غشای سلول، آنزیم های سیتوپلاسمی، پروتئین ها و همچنین جلوگیری از تولید رادیکال های آزاد و دیگر گونه های فعال اکسیژن شود. بعلاوه تخریب و اختلال در فرایند سنتز پروتئین، تحریک سنتز پرولین از اسید گلوتامیک و جلوگیری از اکسیداسیون پرولین از دلایل تجمع پرولین به هنگام تنش می باشد (Boroujerdnia et al., 2016). حسنوند و رضایی نژاد (Hassanvand and Rezaii Nejad 2016) گزارش کردند گیاه شمعدانی در شرایط تنش موجب افزایش پرولین و کاهش آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز گیاه می شود. همچنین تیمار گابا در تحقیق ما احتمالاً مسیرهایی را در گیاهان فعال می کند که منجر به بالا رفتن میزان پرولین در درختان پسته می شود. با این وجود، خیاط مقدم و همکاران (Khayat Moghadam et al., 2021) گزارش کردند محلول پاشی کلزا توسط سلیکات پتاسیم با کاهش پرولین موجب بهبود تنش در گیاه می شود.

در مطالعه ی حاضر، تیمار کیتوزان با افزایش آنزیم های دفاعی پراکسیداز و کاتالاز موجب کاهش جمعیت پسیل شد. پراکسیداز و کاتالاز از آنزیم های موثر در حذف گونه های فعال اکسیژن هستند که موجب تبدیل پراکسید هیدروژن تولید شده به آب و

۱ اکسیژن می‌شوند (Ganji et al., 2019). از سوی دیگر کاهش مقدار کاتیون‌های تک ظرفیتی در سیتوسول سبب سنتز
 ۲ پرولین در جهت کم کردن تنش‌های اکسیداتیو وارد شده بر گیاه می‌شود (Molinari et al., 2007). در مطالعه حاضر گرچه
 ۳ در گیاهان تحت تیمار کیتوزان، میزان پرولین کمتری مشاهده شد اما احتمالاً به دلیل افزایش اسیدآمینه‌های دیگر، دفاع گیاه
 ۴ افزایش یافت. چنان‌چه گزارش شده است کیتوزان در گیاهان لوبیا می‌تواند غلظت اسیدآمینه‌های دیگر مانند گلايسين بتائين
 ۵ را نسبت به پرولین افزایش دهد (Sheikha and Al-Maleki, 2015).
 ۶ کاتالاز به‌صورت یک سیگنال در القاء ژن‌های دفاعی نقش داشته (Chen et al., 2000) و سبب ایجاد مقاومت در دیواره‌ی
 ۷ سلول گیاهی می‌شود (Mittler, 2002). در برخی تحقیقات گزارش شده است که تغذیه حشرات مکنده موجب کاهش فعالیت
 ۸ آنزیم کاتالاز می‌شود (Zhu-Salzman et al., 2004 Usha Rani and Jyothsna, 2010). طاهری و همکاران (Taheri
 ۹ et al., 2018) گزارش کردند که محلول پاشی کیتوزان در غلظت‌های متفاوت موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی
 ۱۰ گیاه می‌شود. همچنین کیتوزان به عنوان القاگر زیستی موجب افزایش فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز،
 ۱۱ پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز) و ترکیبات فنل کل در گیاه ریحان شد (Naderi et al., 2015). خاوری نژاد (Khavari-
 ۱۲ Nejad 2018) بیان کرد فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه که منجر به توان بالای دفاع گیاه می‌شود، در مسیر ایجاد تنش افزایش
 ۱۳ می‌یابد. براساس گزارش این محقق، آنتی‌اکسیدان‌ها مولکول‌هایی هستند که با انتقال الکترون به رادیکال‌های آزاد آن‌ها را
 ۱۴ به شکل پایدار خود تبدیل می‌کنند و به این ترتیب تأمین کننده بقاء سلول به‌شمار می‌روند. تجمع پراکسیدازها در سلول
 ۱۵ می‌تواند سبب استحکام دیواره‌ی سلولی به‌هنگام تمایز سلولی و در نتیجه افزایش مقاومت نسبت به آسیب‌های عوامل بیمارگر
 ۱۶ شود. آنزیم پراکسیداز در برخی از فعالیت‌های متابولیکی اولیه و ثانویه متفاوت همچون تنظیم کشیدگی سلول (Goldberg
 ۱۷ et al., 1986)، تشکیل لیگنین (Egea et al., 2001) و اکسیداسیون فنل‌ها (Schmid and Feucht, 1980) موثر است.
 ۱۸ در این مطالعه آنزیم پراکسیداز در درختان تیمار شده با گابا کاهش یافت که احتمالاً به‌دلیل افزایش میزان پراکسید هیدروژن
 ۱۹ در درختان پسته بود. چنان‌چه از بین رفتن مقادیر زیادی از آنزیم پراکسیداز به هنگام کاربرد گابا در پژوهش حاضر جهت
 ۲۰ کنترل تنش اکسیداتیو بوده است. در واقع پراکسیدازها نقش مهمی در حفاظت سلول در برابر غلظت‌های سمی مختلف
 ۲۱ پراکسید هیدروژن دارند و از جمله آنزیم‌هایی هستند که بر اثر تنش‌های زیستی فعال می‌شود (Parida and Das, 2005).
 ۲۲ حسوند و رضایی نژاد (Hassanvand and Rezaii Nejad, 2016) نیز نشان دادند کاربرد سیلیکات پتاسیم در گیاه با کاهش
 ۲۳ میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز و افزایش تولید مالون‌دی‌آلدئید و نشت الکترولیت‌ها در بهبود رشد و ویژگی‌های
 ۲۴ بیوشیمیایی شمعدانی معطر مؤثر بود.
 ۲۵ به‌طور کلی آنزیم‌های دفاعی در مراحل مختلف زندگی حشره و با گذشت زمان تغییر می‌کند که این با تنش‌های اکسیداتیو
 ۲۶ مرتبط است (Fahmy et al., 2022). مطالعات نشان داده است فعالیت برخی آنزیم‌های دفاعی گیاه از جمله کاتالاز پس از
 ۲۷ تغذیه آفات مکنده کاهش یافته، تغییری نکرده (Gomez et al., 2004; Khattab, 2007) یا افزایش یافته است (Ferry
 ۲۸ et al., 2011; Mai et al., 2013). در حقیقت، به هنگام ایجاد تنش، آنزیم‌های دفاعی از آسیب گونه‌های فعال اکسیژن

جلوگیری می‌کنند و بعد از آن نقش آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی افزایش می‌یابد (Ganji et al., 2019). در مطالعه‌ی حاضر، تیمار درختان با کیتوزان به دلیل افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنلی کارایی بالاتری در کنترل جمعیت پسیل پسته داشتند. ترکیبات فنلی نقش مهمی در مقاومت و دفاع گیاه در برابر آفات و بیماری‌ها دارند. در این تحقیق، احتمالاً تیمار کیتوزان با فعال کردن مسیرهایی در گیاه موجب بالا رفتن سطح فنل در درختان پسته می‌شود. تحقیقات نشان می‌دهد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه به طور مستقیم با میزان فنل کل مرتبط است (Ghasemzadeh et al., 2010). از طرفی دیگر، کاربرد غلظت‌های بالای کیتوزان ممکن است منجر به اثرات نامطلوب بر کیفیت محصول شود، بنابراین استفاده از غلظت ایمن کیتوزان در مدیریت محصول باید مورد توجه قرار گیرد (Jafari and Javadi, 2020; Taghipour et al., 2024). فلاوونوئیدهای گیاهی نیز بر رفتار و نشو و نما و برخی حشرات همچون شته مومی کرم و کرم جوانه خوار توتون تأثیر می‌گذارند (Taiz and Zeiger, 2002; Sattari Nasab et al., 2019). با این وجود در این مطالعه اختلاف معناداری از نظر میزان فلاوونوئید کل بین تیمارها مشاهده نشد. بنابراین تفاوت در درصد کارایی کنترل جمعیت پسیل بین تیمارها را می‌توان به وجود ترکیبات فنلی، متابولیت‌های ثانویه دیگر و توان آنتی‌اکسیدانی گیاه مرتبط دانست. همبستگی منفی بین حضور ترکیبات فنلی در گیاه میزبان و جمعیت برخی حشرات ثابت شده است (Gantner et al., 2017).

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق بیانگر آن است کاربرد ترکیبات مختلف به عنوان عامل القاکننده مقاومت باعث تغییر در میزان تولید عوامل دفاعی آنزیمی و غیر آنزیمی در گیاه میزبان و متعاقباً جمعیت پسیل پسته می‌شود. در واقع هریک از تیمارهای مورد مطالعه با فعال کردن مکانیسم‌های مختلف در داخل گیاه موجب افزایش مقاومت درختان به پسیل پسته می‌شوند. در این میان درختان تیمار شده با کیتوزان کمترین جذابیت را برای پسیل پسته داشتند که با محتوای نسبی بالاتر فنل، مقادیر بیشتر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز گیاه مرتبط بود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت تیمارهای مورد آزمایش تأثیرات متفاوتی روی مقاومت درختان پسته به پسیل *A. pistaciae* دارند. با انجام آزمایش‌های تکمیلی از جمله اثر این ترکیبات بر میزان و کیفیت محصول پسته، احتمالاً این ترکیبات می‌توانند در برنامه‌های مدیریت تلفیقی این پسیل در باغات پسته مورد استفاده قرار گیرند. بنابراین پیشنهاد می‌شود تحقیقات بیشتر در سطح وسیع‌تر، از نظر اقتصادی و همچنین در تلفیق با روش‌های دیگر روی میزان کارایی این ترکیبات در کنترل آفت انجام شود.

References

- Abdou, N.M., El-Saadony, F.M. A., Roby, M.H.H., Mahdy, H.A.A., El-Shehawi, A.M., Elseehy, M.M., El-Tahan, A.M., Abdalla, H.S., Ahmed, M., & AbouSreea, A.I.B. (2022). Foliar spray of potassium silicate, aloe extract composite and their effect on growth and yielding capacity of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) under water deficit stress conditions. *Saudi Journal of Biological Sciences*, <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.02.033>
- Aparecida De Assis, F., Campos-Moraes, J., Paterno-Silveira, L. C., Franoso, J., Maria-Nascimento, A. & Silveira-Antunes, C. (2012). Inducers of resistance in potato and its

- effects on defoliators and predatory insects. *Revista Colombiana de Entomología*. 38(1), 30–34. DOI:https://doi.org/10.25100/socolen.v38i1.8914.
- Asghari, M. (2019). Impact of jasmonates on safety, productivity and physiology of food crops. *Trends in Food Science & Technology*, 91, pp. 169-183. DOI: 10.1016/j.tifs.2019.07.005
- Assis, F.A., Moraes, J.A., Assis, G.A., & Parolin, F.J.T. (2015). Induction of Caterpillar Resistance in Sunflower Using Silicon and Acibenzolar-S-Methyl. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 17, 543-550
- Badawy, M.E. I.; & El-Aswad, A.F. (2012). Insecticidal activity of chitosans of different molecular weights and chitosan-metal complexes against cotton leaf worm *Spodoptera littoralis* and oleander aphid *Aphis nerii*. *Plant Protection Science*, 48, 131–141. [CrossRef]
- Balakhnina, T.I. (2013). Effects of silicon on plant resistance to environmental stresses: Review of [International Agrophysics], 27, 225-232. DOI: 10.2478/v10247-012-0089-4
- Bao, H., Chen, X., Lv, S., Jiang, P., Feng, J. J., Fan, P. X., Nie, L. L., & Li, Y.X. (2015). Virus induced gene silencing reveals control of reactive oxygen species accumulation and salt tolerance in tomato by γ -aminobutyric acid metabolic pathway. *Plant Cell & Environment*, 38, 600–613.
- Barbosa, J.M., Singh, N.K., Cherry, J.H., & Locy, R.D. (2010). Nitrate uptake and utilization is modulated by exogenous γ -aminobutyric acid in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(6), 443-450.
- Bates, L.S., Waldren, R.P.A., & Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil*, 39, 205-207.
- Bernays, E.A., Driver, G.C., & Bilgener, M. (1989). Herbivores and plant tannins. *Advances in ecological research*, 19, 263-302.
- Bidart-Bouzat, M.G., & Imeh-Nathaniel, A. (2008). Global change effects on plant chemical defenses against insect herbivores. *Journal of integrative plant biology*, 50(11), 1339-1354.
- Boroujerdnia, M., Bihamta, M.R., AlamiSaid, K.H., & Abdossi, V. (2016). Effect of drought tension on proline content, soluble carbohydrates, electrolytes leakage and relative water content of bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *crop physiology journal*, 8(29), 23-41.
- Bown, A.W., Hall, D.E., & MacGregor, K.B. (2002). Insect footsteps on leaves stimulate the accumulation of 4-aminobutyrate and can be visualized through increased chlorophyll fluorescence and superoxide production. *Plant Physiology*, 129(4), 1430-1434.
- Cakmak, I., & Marschner, H. (1992). Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, and glutathione reductase in bean leaves. *Plant physiology*, 98(4), 1222-1227
- Chen, D., Cao, B., Wang, S. et al (2016). Silicon moderated the K deficiency by improving the plant-water status in sorghum. *Scientific Reports*, 6, 22882. DOI: 10.1038/srep22882
- Chen, W.P., Li, P.H., & Chen, T.H.H. (2000). Glycinebetaine increases chilling tolerance and reduces chilling-induced lipid peroxidation in *Zea mays* L. *Plant, Cell & Environment*, 23(6), 609-618.

- Correa, R.S., Moraes, J.C., Auad, A.M., & Carvalho, G.A. (2005). Silicon and acibenzolar-S-methyl as resistance inducers in cucumber, against the whitefly *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) biotype B. *Neotropical Entomology*, 34, 429-433.
- Egea, C., Ahmed, A.S., Candela, M., & Candela, M.E. (2001). Elicitation of peroxidase activity and lignin biosynthesis in pepper suspension cells by *Phytophthora capsici*. *Journal of Plant physiology*, 158(2), 151-158.
- El Hadrami, A., Adam, L.R., El Hadrami, I., & Daayf, F. (2010). Chitosan in plant protection. *Marine Drugs*, 8, 968-987.
- Fahmy, N.M., Amin, T.R., & Khedr, M. (2022). Changes in antioxidant enzymes during the development of the cotton leafworm, *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae). *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. A, Entomology*, 15(3), 151-163.
- Ferry, N., Stavroulakis, S., Guan, W., Davison, G. M., Bell, H.A., Weaver, R.J., & Gatehouse, A. M. (2011). Molecular interactions between wheat and cereal aphid (*Sitobion avenae*): analysis of changes to the wheat proteome. *Proteomics*, 11(10), 1985-2002.
- Ganji, Z., Hosseini Naveh, V., Ashouri, A., & Maali Amiri, R. (2019). Some biochemical responses of pistachio to feeding of the common pistachio psylla, *Agonoscyta pistaciae*. *Plant Pest Research*, 9(3), 15-27. doi: 10.22124/iprj.2019.3771
- Gantner, M., Najda, A., & Piesik, D. (2019). Effect of phenolic acid content on acceptance of hazel cultivars by filbert aphid. *Plant Protection Science*, 55(2), 116–122.
- Ghasemzadeh, A., Jaafar, H.Z., & Rahmat, A. (2010). Antioxidant activities, total phenolics and flavonoids content in two varieties of Malaysia young ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Molecules*, 15(6), 4324-4333.
- Gliński, J. (2011). Agrophysical objects (soils, plants, agricultural products, and food). In: Encyclopedia of Agrophysics (Eds J. Gliński, J. Horabik, J. Lipiec), Springer Press, Dordrecht Heidelberg-London-New York.
- Goldberg, R., Imberty, A., Liberman, M., & Prat, R. (1986). Relationships between peroxidatic activities and cell wall plasticity. *Molecular and physiological aspects of plant peroxidases/edited by H. Greppin, C. Penel, Th. Gaspar*.
- Gomaa, M., Kandil, E.E., El-Dein, A.A. Z. et al (2021). Increase maize productivity and water use efficiency through application of potassium silicate under water stress. *Scientific Reports*, 11, 1–8. DOI: 10.1038/s41598-020-80656-9
- Gomez, S.K., Oosterhuis, D.M., Rajguru, S.N., & Johnson, D.R. (2004). Foliar antioxidant enzyme responses in cotton after aphid herbivory. *Journal of Cotton Science*, 8(2), 99-104.
- Hafez, E.M., Osman, H.S., El-Razek, U.A.A. et al (2021). Foliar-Applied Potassium Silicate Coupled with Plant Growth-Promoting *Rhizobacteria* Improves Growth, Physiology, Nutrient Uptake and Productivity of Faba Bean (*Vicia faba* L.) Irrigated with Saline Water in Salt-Affected Soil. *Plants*, 10, 894. <https://doi.org/10.3390/plants10050894>

- Hassanvand, F., & Rezaei Nejad, A. (2018). Effect of potassium silicate on growth, physiological and biochemical characteristics of *Pelargonium graveolens* under salinity stress. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 48(4) 743-752. DOI: 10.22059/ijhs.2018.210950.1040
- Hayyan, M., Hashim, M.A., & AlNashef, I.M. (2016). Superoxide ion: generation and chemical implications. *Chemical reviews*, 116(5), 3029-3085.
- Henderson, C.F. & Tilton, E.W. (1955). Tests with acaricides against the brown wheat mite. *Journal of economic entomology*, 48(2), 157-61. <https://doi.org/10.1093/jee/48.2.157>
- Jafari, F.J. & Javadi, A. (2020). The Effect of chitosan coating incorporated with walnut leaf extract on shelf life of pistachio. *Food Research Journal*, 30(3), 221-232.
- Jin, X., Liu, T., Xu, J., Gao, Z., & Hu, X. (2019). Exogenous GABA enhances muskmelon tolerance to salinity-alkalinity stress by regulating redox balance and chlorophyll biosynthesis. *BMC Plant Biology*, 19, 48. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1660-y>.
- Justyna, P.G., & Ewa, K. (2013). Induction of resistance against pathogens by β -aminobutyric acid. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35, 1735 -1748
- Katiyar, D., Hemantaranjan, A., & Singh, B. (2015). Chitosan as a promising natural compound to enhance potential physiological responses in plant: a review. *Indian J. Plant Physiol.* 20, 1–9.
- Khattab, H. (2007). The defense mechanism of cabbage plant against phloem-sucking aphid (*Brevicoryne brassicae* L.). *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 1(1), 56-62.
- Khavari-Nejad S. (2018). A review on plant peroxidases. *Nova Biologica Reperta*, 5(4), 428-437
- Khayat Moghadam, M.S., Gholami, A., Shirani rad, A.H., BaradaranFiroozabadi, M., & Abbasdokht, H. (2021). The effect of Potassium Silicate and Late-Season Drought Stress on the Physiological Characters of Canola. *Journal of Crops Improvement*, 23(4), 776-761. doi: 10.22059/jci.2021.306872.2424
- Lang, J., Gonzalez-Mula, A., Taconnat, L., Clement, G., & Faure, D. (2016). The plant GABA signaling downregulates horizontal transfer of the *Agrobacterium tumefaciens* virulence plasmid. *New Phytology*, 210, 974–983.
- Mahanil, S., Attajarusit, J., Stout, M.J., & Thipyapong, P. (2008). Overexpression of tomato polyphenol oxidase increases resistance to common cutworm. *Plant science*, 174(4), 456-466.
- MahmoudiMeimand, M.J., & Ghanbari Adivi, A. (2013). A new approach to the management of pistachio planting and harvesting. *Newshe*, 128pp
- Mai, V.C., Bednarski, W., Borowiak-Sobkowiak, B., Wilkaniec, B., Samardakiewicz, S., & Morkunas, I. (2013). Oxidative stress in pea seedling leaves in response to *Acyrtosiphon pisum* infestation. *Phytochemistry*, 93, 49-62.
- Mehrnejad, M.R. (2001). The current status of pistachio pests in Iran. *Cahiers Options Méditerranéennes*, 56(1), 315-322.
- Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in plant science*, 7(9), 405-410.

- Molinari, H.B.C., Marur, C.J., Daros, E., de Campos, M.K.F., de Carvalho, J., Bessalho, J.C., Pereira, L.F.P., & Vieira, L.G.E. (2007). Evaluation of the stress-inducible production of proline in transgenic sugarcane (*Saccharum* spp.): osmotic adjustment, chlorophyll fluorescence and oxidative stress. *Physiologia Plantarum*, 130(2), 218-229.
- Naderi, S., Esmaeilzadeh Bahabadi, S., & Fakheri, B. (2015). The effect of chitosan on some physiological and biochemistry characterization in basil (*Ocimum basilicum*). *Journal of Plant Process and Function. Iranian Society of Plant Physiology*, 4(12), 29-41.
- Parida, A.K., & Das, A.B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and environmental safety*, 60(3), 324-349.
- Pereira, R.R.C., Moraes, J.C., Prado, E., & DaCosta, R. R. (2010). Resistance inducing agents on the biology and probing behaviour of the greenbug in wheat. *Scientia Agricola*, 67, 430-434.
- Polle, A., Otter, T., & Seifert, F. (1997). Apoplastic peroxidases and lignification in needles of Norway spruce (*Picea abies* L.). *Plant Physiology*, 106(1), 53-60.
- Reynolds, O.L., Keeping, M.G., & Meyer, J.H. (2009). Silicon-augmented resistance of plants to herbivorous insects: a review. *Annals of applied biology*, 155(2), 171-186.
- Rouhani, M., & Samih, M.A. (2012). Mortality effect of plant extracts with pesticide on common pistachio psylla, *Agonoscena pistaciae*. *Archives Des Sciences*, 65(8), 452-460
- Sabbour, M.M. (2019). Effect of chitosan and nano-chitosan on *Saissetia oleae* (Hemiptera: Coccidae). *Journal of Applied Sciences*, 19(2), 128-132.
- Sabbour, M.M., & Abdel-Hakim, E.A. (2018). Control of *Cassida vittata* (Vill) (Coleoptera: Chrysomelidae) using chitosan and nano chitosan. *Middle East Journal of Applied Sciences*, 8(1), 141-144
- Saed-Moucheshi, A., Sohrabi, F., & Shirkhani, A. (2023). A review on reactive oxygen species (ROS): production, function, and their influence on plants. *Crop Biotechnology*, 13(2), 53-70.
- Sattari Nasab, R., Pahlavan Yali, M., & Bozorg-Amirkalaei, M. (2019) Effects of humic acid and plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on induced resistance of canola to *Brevicoryne brassicae* L. *Bulletin of Entomological Research*, 109(4), 479-489.
- Schmid, P.P.S., Feucht, W. (1980). Tissue-specific oxidative browning of polyphenols by peroxidase in cherry shoots. 68-73.
- Shabani, Z., Samih, M.A., Irannezhad, M.A., & Mirzaii, F. (2011). Insecticidal efficacy of acetamiprid, hexaflumuron and *Calotropis procera* extract on *Agonoscena pistaciae* Burckhardt and Lauterer under laboratory conditions. In *Global Conference on Entomology*, pp. 5-9.
- Shahid, M., Pourrut, B., Dumat, C., Nadeem, M., Aslam, M., & Pinelli, E. (2014). Heavy-metal induced reactive oxygen species: phytotoxicity and physicochemical changes in plants. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 232, 1-44.
- Shahrokhy, M., Pahlavan Yali, M., & Bozorg-Amirkalaei, M. (2024). Role of exogenous elicitors in canola plant defense against cabbage aphid by regulating physiological balance and

- secondary metabolite biosynthesis. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 26(1), 165-176.
- Sheikha, S.A.A., & AL-Malki, F.M. (2015). Chitosan influence on the amino acids and proline content in the plants under drought stress. *Journal of Plant Production*, 6(4), 447-455.
- Soland, S.F., & Laima, S.K. (1999). Phenolics and cold tolerance of *Brassica napus*. *Plant Agriculture*, 1, 1-5.
- Tahami Zarandi, S.M.R., Askarianzadeh, A., & Karimi, J. (2022). Evaluation of the chemical and cultural control methods of the common pistachio psylla, *Agonoscaena pistaciae* (Hem.: Psyllide) in laboratory and field conditions. *Iranian Journal of Plant Protection Science*. 53(2), 271-282. DOI: 10.22059/IJPPS.2023.350634.1007013
- Taheri, F., Dahmardeh, M., Salari, M., & Bagheri, R. (2018). Evaluate the effect of chitosan on the activities of antioxidant enzymes in Ajwain (*Carum copticum* L.) under drought stress. *Iranian Journal of Horticultural Sciences*, 48(3), 575-584.
- Taghipour, S., Ehtesham, N.A., & Hokmabadi, H. (2024). The effect of pre-harvest chitosan and nano-chitosan application on the shelf life and quality of fresh pistachio (*Pistacia vera* L. Cv. 'Ahmad-Aghaei'). *Iranian Journal of Horticultural Science and Technology*, 25(1), 149-162.
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2002). *Plant Physiology*. Sinauer Associates Inc Publishers. Sunderland, MA, 690pp.
- Todd, G.W., Getahun, A., & Cress, D.C. (1971). Resistance in barley to the greenbug, *Schizaphis graminum*. 1. Toxicity of phenolic and flavonoid compounds and related substances. *Annals of the Entomological Society of America*, 64(3), 718-722.
- Toscano, N.C., & Prabhaker, N. (2011). Spiromesifen: A New Pest Management Tool for Whitefly Management. Available at [http://www.insectscience.org/8.04/ref/abstract 78.html](http://www.insectscience.org/8.04/ref/abstract%2078.html).
- Usha Rani, P., & Jyothsna, Y. (2010). Biochemical and enzymatic changes in rice plants as a mechanism of defense. *Acta Physiologiae Plantarum*, 32, 695-701.
- Velikova, V., Yordanov, I., & Edreva, A.J.P.S. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. *Plant science*, 151(1), 59-66.
- Wang, C.Y., Fan, L.Q., Gao, H.B., Wu, X.L., Li, J.R., Lv, G.Y., & Gong, B. B. (2014). Polyamine biosynthesis and degradation are modulated by exogenous gamma-aminobutyric acid in root-zone hypoxia-stressed melon roots, *Plant Physiology and Biochemistry*, 82, 17–26.
- War, A.R., Buhroo, A.A., Hussain, B., Ahmad, T., Nair, R.M., & Sharma, H.C. (2020). Plant defense and insect adaptation with reference to secondary metabolites. *Co-evolution of secondary metabolites*, 795-822.
- Wójcicka, A. (2010). Cereal phenolic compounds as biopesticides of cereal aphids. *Polish Journal of Environmental Studies*, 19(6), 1337-1343.
- Zhen, A., Zhang, Z., Jin, X.Q., Liu, T., Ren, W.Q., & Hu, X.H. (2018). Exogenous GABA application improves the NO₃ – -N absorption and assimilation in Ca(NO₃)² – treated muskmelon seedlings. *Science of Horticulture*, 227, 117–123.

- ١ Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in
٢ mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food chemistry*, 64(4), 555-
٣ 559.
- ٤ Zhu-Salzman, K., Salzman, R.A., Ahn, J.E., & Koiwa, H. (2004). Transcriptional regulation of
٥ sorghum defense determinants against a phloem-feeding aphid. *Plant physiology*, 134(1),
٦ 420-431.
- ٧ Ziaaddini, F., Yali, M. P., & Bozorg-Amirkalae, M. (2022). Foliar spraying of elicitors in pear
٨ trees induced resistance to *Cacopsylla bidens*. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 25(4),
٩ 101969.
- ١٠
١١
١٢