Journal of Iranian Plant Protection Research

https://jpp.um.ac.ir

Research Article
Vol. 37, No. 1, Spring 2023, p. 33-43

On the Role of Saffron Bulb Infection to Soil Born Fungi on Biology, Behavior and Damage of Bulb Mite *Rhizoglyphus robini* Claparede (Acari: Astigmata)

A. Amiri-Jami [1*]

Received: 06-12-2022
Revised: 28-01-2023
Accepted: 29-01-2023
Available Online: 29-01-2023

How to cite this article:
Amiri-Jami, A. (2023). On the role of saffron bulb infection to soil born fungi on biology, behavior and damage of bulb Mite *Rhizoglyphus robini* Claparede (Acari: Astigmata). *Journal of Iranian Plant Protection Research 37*(1): 33-43. (In Persian with English abstract). http://doi.org/10.22067/jpp.2023.79914.1118

Introduction

Saffron is one the most expensive crops and like other agricultural products, attacked by pest such as bulb Mite *Rhizoglyphus robini* Claparede (Acari: Astigmata). The bulb mite is one of the most important soil pest attacking plants with bulbs, corms and also tubers. In Iran it has been reported by Rahimi and Kamali (1993) for the first time on saffron corms from Gonabad and Qaen cities. Also it has been recorded that the bulb mite feeding on soil born fungi (Diaz *et al*., 2000; Nesvorna *et al*., 2012). On the other hand, there are many saprophytic fungi into the soil of saffron fields. Subsequently it may question whether the mite is primary or secondary pest on saffron corms. Despite many literatures on biology and ecology of *Rhizoglyphus* mites, there is not sufficient evidence on understanding the biology, behavior and colonization of *R. robini* regarding its damage to saffron corms when arriving after establishment of the soil born fungi.

Materials and Methods

To investigate the impact of soil-borne fungi on the biology of the bulb mite, we obtained a cohort of even-aged eggs from the mites in our stock culture. These eggs were then transferred to individual experimental units and monitored until they reached adulthood. Daily observations were made and recorded.

To assess mite fecundity, we selected thirty young ovipositing females and divided them into two groups: one group was exposed to fungal infection while the other group was not. Each saffron corm was placed in a 50mm Petri dish lined with wet filter paper. A starved mated female was added to each dish, and every three days for a period of 21 days, the number of eggs laid per dish was counted and then removed. The number of eggs per day per female was calculated based on these counts.

To study the attraction of bulb mites to the fungus, saffron corm sections with and without fungal infection were placed in a 50mm Petri dish. Four sections, with equal distances from each other and from the center, were arranged. Female R. robini mites were introduced into the dish, and after a four-hour period, the number of mites on each section was recorded.

For evaluating the population dynamics of the mite, we used four types of saffron corms: healthy corms, corms infected by the fungus, mechanically injured corms, and corms both infected and injured. Each experimental unit consisted of three saffron corms of the same size placed in an 80mm Petri dish. Five adult mites were added to each unit. Continuous observations were made daily to track the initial penetration and colonization of the mites in each treatment. The numbers of all motile stages of mites in each experimental unit were recorded using a stereomicroscope. These observations continued until the corms were completely destroyed by the feeding mites.

Results and Discussion

After culturing of sections of infected corms and mite body, the fungi, *Penicillium* spp., *Aspergillus niger*

1- Assistant Professor, Plant Protection Research Department, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Mashhad, Iran
(*- Corresponding Author Email: a.amirijami@areeo.ac.ir)
DOI: 10.22067/jpp.2023.79914.1118

Vantieghem, *Embelisia* sp. and *Fusarium oxysporum* Schlecht were isolated and identified mutually in both samples. As the fungus *F. oxysporum* was the most abundant species, then it was used in the experiments. The fungus significantly affected the generation time (from egg stage to egg produced by adult) of the mite (Table. 1). Also mite fecundity was significantly higher on infested corms with the fungus than on non-infested ones (t = 10.79, d.f.= 27.31, P<0.001)(Figure 1). An obvious attraction of the females was observed toward fungal infected sections and significantly more mites were recorded on them than non-infected ones (W = 400, P<0.001)(Figure. 2).These findings are supported by some other studies (Czajkowska, 1995; Kasuga and Honda 2006; Ofek *et al*., 2013). Higher fecundity and faster development when mites were fed on the fungus on the infected corms are probably due to availability of a special nutrient source (mycelium). The ability of the bulb mite to digest fungi has been attributed to chitinase-producing symbiotic bacteria (Zindel *et al*., 2013). Based on the evidence provided by this study and previous ones (Okabe and Amano, 1990; Ofek *et al*., 2013), the mite *R. robini* was attracted more to fungal infected corms, it might because of metabolites and alcoholic secretions of the fungi. These findings demonstrate the suitability of saffron corms infected with soil fungi for development and population increase of the Robine mite.

The result on mite penetration and population dynamics on four types of treated corms indicated that the mite on infected corms penetrated within two weeks and thereafter population increased exponentially until the end of 5th week. In comparison on healthy corms and even injured ones the mite showed almost no increase during first three weeks and it was not able to penetrate and develop a stable colony on these corms. Also on infected and injured treatment similar population dynamics was observed as on infected ones (Figure. 3). These observations implying that the mite for penetrating into healthy corms encounters some difficulty and considerable time is needed to establish and colonized on such environment. Okabe and Amano (1991) has been found similar results and suggested that earlier penetrations of mites result in a faster population growth and colonization.

Conclusion

For many years the saffron bulb mite has been considered as a primary pest and historically control strategies has relied on the use of chemical miticides (for disinfection and etc.,) and some non-chemical methods. Subsequently the role of soil born fungi has receiving limited attention in this regards. According to the results of the present study, this acarine pest relies on the soil born fungi to penetrate and establish on the saffron corms. In other words, a close relationship exists between fungal infection and damage by *R. robini* on saffron bulbs. It suggest that for improving management strategies in regards of this pest, we should consider the role of saprophytic fungi as a main cause which provides condition for the bulb mite colonization and occurring damage. Further researches is proposed using appropriate methods to suppress soil born fungi and subsequent the bulb mite damage on saffron.

Keywords: Bulb mite, Fungi, Population growth, Saffron

نشریه پژوهش‌های حفاظت گیاهان ایران
https://jpp.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷، شماره ۱، بهار ۱۴۰۲، ص. ۴۳-۳۳

تاثیر آلودگی بنه زعفران به قارچ‌های خاکزاد بر زیست‌شناسی، رفتار و توانایی خسارت‌زایی کنه *Rhizoglyphus robini* Claparede (Acari: Astigmata)

علیرضا امیری جامی[1*]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۹/۱۵
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۱۱/۰۸
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۰۹

چکیده

در میان آفات زعفران، کنه *Rhizoglyphus robini* به عنوان یکی از مهمترین عوامل محدود کننده عملکرد زعفران در ایران قلمداد می‌شود .نمونه برداری از مزارع زعفران از نواحی زعفران خیز استان خراسان رضوی انجام و قارچ‌های مرتبط با بنه زعفران و نیز قارچ‌های مرتبط در داخل بدن کنه جداسازی و سپس با کشت نوک هیف خالص‌سازی شدند. گونه قارچی *Fusarium oxysporum* در نمونه‌های مربوط به بنه زعفران و همچنین کنه به عنوان گونه غالب شناسایی شد. سپس زیست‌شناسی، رفتار و توانایی نفوذ و تشکیل کلنی کنه در ارتباط با آلودگی بنه‌ها به این گونه قارچ خاک‌زاد ارزیابی شد. آلودگی به قارچ مذکور به صورت معنی‌داری بر طول کلیه مراحل زیستی کنه به غیر از مرحله تخم تاثیر گذار بود. بر این اساس طول دوره لاروی آفت در حالت آلودگی به قارچ ۰٫۰۸ ±۲٫۴۵ و بر روی بنه های سالم ۰٫۰۸۸ ±۲٫۷۲ برآورد گردید. طول دوره پوره سن اول برای بنه‌های آلوده ۰٫۰۵۳ ± ۲٫۱۲ و سالم ۰٫۰۸ ±۲٫۴۷ و برای پوره سن آخر نیز به ترتیب ۰٫۰۶۷ ± ۲٫۱۵ و ۰٫۰۸۱ ± ۲٫۴۵ اندازه‌گیری گردید. مرحله پیش از بلوغ کنه نیز بر روی بنه‌های آلوده کوتاه‌تر از بنه‌های سالم بود (۰٫۰۷۷ ± ۱٫۳۶ و ۰٫۱۷۷ ± ۲٫۰۴ به ترتیب بر روی بنه‌های آلوده و سالم). همچنین نرخ زادآوری روزانه کنه تحت تاثیر آلودگی به قارچ خاک‌زاد به صورت معنی‌داری افزایش یافت. همچنین واکنش جلب شدن کنه‌ها به سمت بنه‌های زعفران نشان دهنده اختلاف معنی‌داری در رابطه با تمایل کنه‌ها نسبت به قطعات بنه آلوده به قارچ در مقایسه با سالم (غیرآلوده) بود. نتایج آزمایش نفوذ و توانایی کلنی‌سازی کنه نشان داد که روی بنه‌های آلوده به قارچ نفوذ آن‌ها سریعتر و متعاقبا سرعت رشد جمعیت و تشکیل کلنی پایدار افزایش یافت. بر اساس نتایج این مطالعه، اخسارت کنه *R. robini* به عنوان گونه غالب مزارع زعفران ارتباط تنگاتنگی با آلودگی بنه‌ها به قارچ ساپروفیت داشت. بنابراین در برنامه مدیریت تلفیقی این آفت، بایستی خسارت کنه را در ارتباط با آلودگی همزمان بنه‌ها به قارچ‌های ساپروفیت ارزیابی و سپس با توجه به مساله اولیه یا ثانویه بودن منشاء خسارت، اقدام مدیریتی متناسب برمبنای مهار جمعیت کنه و قارچ به صورت همزمان اتخاذ گردد. به عبارت دیگر، با مهار جمعیت قارچ‌های ساپروفیت بر روی بنه‌های زعفران می‌توان خسارت کنه را تا حد زیادی کاهش داد.

واژه‌های کلیدی: زعفران، کنه زعفران، قارچ‌های خاک‌زاد، رفتارشناسی، رشد جمعیت

مقدمه

کشور ما ایران با بیش از ۶۰ درصد کل تولید زعفران دنیا به عنوان بزرگترین تولید کننده این محصول ارزشمند بشمار می‌آید. بر اساس آمار رسمی وزارت جهاد کشاورزی در سال ۱۳۹۹، زعفران در ۳۰ استان کشور کشت می‌شود. سطح زیرکشت این محصول در مجموع سه استان خراسان به عنوان بزرگترین تولید کننده‌ی زعفران ایران در حدود ۱۱۲۱۵۵ بوده که بیش از هر محصول کشاورزی در سطح کشور می‌باشد (Ahmadi *et al.*, 2021). زعفران با نام علمی *Crocus sativus* L. گیاهی تک لپه و تریپلوئیداز خانواده زنبقیان (Iridaceae) است (Rashed-Mohassel, 2019). میانگین عملکرد

۱- استادیار پژوهشی بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران
(*- نویسنده مسئول: (Email: a.amirijami@areeo.ac.ir
DOI: 10.22067/jpp.2023.79914.1118

زعفران در ایران در مقایسه با برخی کشورهای اروپایی تولید کننده این محصول به طور چشمگیری پایین‌تر و در حدود ۳/۶۲ کیلوگرم در هکتار گزارش شده است (Agricultural Statistics, 2018). طی سالیان اخیر با توسعه و افزایش سطح زیر کشت این محصول در اکثر مناطق کشور متاسفانه عملکرد در واحد سطح دارای روند نزولی بوده و از ۵/۷۶ کیلوگرم در هکتار در سال ۱۳۵۲ به ۳/۶۲ کیلوگرم در هکتار در سال ۱۳۹۶ رسیده است (Koocheki and Khajeh-Hosseini, 2020). برای افزایش عملکرد در واحد سطح این محصول ارزشمند، علاوه بر مسائل مربوط به مدیریت زراعی و تأمین مواد غذایی مورد نیاز این گیاه، مدیریت آفات و بیماری‌های آن نیز نقش مؤثری در افزایش کیفیت و کمیت محصول تولیدی دارد (Asadi *et al.*, 2004; Rahimi, 2015; Nehvia and Yasmin, 20172014).

کنه Claparede *Rhizoglyphus robini* گونه‌ای همه‌جازی بوده و در زمره مهم‌ترین آفات پیاز، غده و یا کورم گیاهان زینتی در سراسر دنیا نیز به شمار می‌رود (Diaz *et al.*, 2000). این کنه در ایران برای اولین باردر سال ۱۳۷۲ از روی بنه‌های زعفران در شهرستان‌های قائن و گناباد گزارش شد (Rahimi and Kamali, 1993). به تدریج شیوع این کنه روی بنه‌های زعفران افزایش و در اکثر مناطق کاشت زعفران انتشار پیدا کرد (Rahimi, 2015). این کنه به بنه زعفران حمله و ضمن تغذیه از اندوخته آن، باعث پوسیدگی و در نتیجه کاهش گلدهی آن می‌شود (Rahimi, 2015). عواملی مختلفی بر زیست‌شناسی و میزان خسارت این کنه تاثیر گذار می‌باشند که از جمله می‌توان به آبیاری تابستانه مزارع، عمق کاشت و سن مزرعه زعفران اشاره نمود (Rahimi *et al.*, 2008). همچنین نوع میزبان و شرایط دمایی نیز روی زیست‌شناسی و فعالیت کنه *R. robini* موثر می‌باشند (Rahimi, Fashing and Hefel, 1990; and Kamali, 1993). به عبارت دیگر، فعالیت کنه بنه زعفران همچون بسیاری از موجودات خسارت‌زای دیگر، می‌تواند تحت تاثیر سه عامل دما، رطوبت و غذا تغییر نماید. شایان ذکر است که این کنه قادر است نوعی رژیم غذایی ساپروفیتی نیز از خود بروز دهد (Diaz *et al.*, 2000). در همین ارتباط، مطالعات نشان داده است که کنه بنه زعفران با استفاده از فقط یک برگه کاغذ صافی می‌تواند چرخه زندگی خودش را تکمیل کند که این مساله احتمالا با توجه به تغذیه کنه از میسیلیوم‌های قارچ‌های رشد کرده روی کاغذ صافی و رژیم غذایی ساپروفیتی امکان‌پذیر می‌باشد (Wooddy&Fashing, 1993). همچنین نتایج برخی مطالعات دیگر نشان داده است که این کنه مزارع آلوده به قارچ را بیشتر از مزارع سالم ترجیح می‌دهد (Zindel*et al.*, 2013). شایان ذکر است که در داخل خاک مزارع زعفران عموما مجموعه قارچ‌های ساپروفیت به صورت بالقوه وجود دارند. این عوامل قارچی قادرند مدت زمان طولانی در داخل خاک بقاء پیدا کنند و گاها به بنه زعفران نیز حمله و باعث ایجاد پوسیدگی‌شوند (Afzali, Saeedizadeh, 2014; Najari *et al.*, 2018). بنابراین مشخص شدن ارتباط این قارچ‌های خاک‌زاد با خسارت‌زایی کنه بنه زعفران از اهمیت بسزایی برخوردار است. متاسفانه علی رغم مطالعات صورت گرفته روی زیست‌شناسی، خسارت و روش‌های مبارزه با کنه زعفران (Rahimi *et al.*, 2008; Rahimi and Kamali, 1993)، هنوز اطلاعات روشنی در ارتباط با نقش این قارچ‌ها در رابطه با زیست‌شناسی و میزان خسارت‌زا بودن کنه در مزارع زعفران وجود ندارد. به نظر می‌رسد آسیب وارده به بنه زعفران ناشی از تغذیه کنه، ارتباط تنگاتنگی با آلودگی همزمان بنه‌ها به قارچ‌های خاک‌زاد داشته باشد. بنابراین مطالعه و بررسی اثرات هم‌افزایی آن‌ها می‌تواند در زمینه اتخاذ روش‌های مدیریتی متناسب برای جلوگیری از خسارت و متعاقبا افزایش عملکرد زعفران در واحد سطح حائز اهمیت باشد. با این پیش زمینه، در مطالعه حاضراین فرضیه که آیا اساسا کنه *R. robini* در ارتباط با زعفران یک آفت اولیه یا ثانویه است بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

جداسازی و شناسایی پرگنه‌های قارچ مرتبط با کنه از روی بنه‌های زعفران

نمونه برداری جهت جداسازی قارچ‌های خاک‌زاد مرتبط با بنه و کنه زعفران، از نواحی زعفران‌خیز استان خراسان رضوی (شهرستان-های گناباد، قوچان، درگز، تربت حیدریه و تربت جام) انجام گرفت. برای تهیه نمونه‌ها بنه‌های زعفران به روش خشک کن[1] از داخل خاک خارج و داخل نایلون پلاستیکی تیره به آزمایشگاه منتقل شد. سپس بنه‌های مشکوک به آلودگی قارچی و کنه تفکیک شده وتوسط یک اسکالپل سترون قطعاتی از حاشیه محل پوسیدگی روی بنه‌ها جدا و ابتدا روی محیط کشت آب آگار[2] قرار داده شدند، بعد از گذشت ۴۸ ساعت، خالص سازی قارچ‌ها با کشت نوک هیف یا تک اسپور کردن روی محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار[3] انجام گرفت (Smiley *et al.*, 2005). در مرحله بعد این تشتک‌های پتری حاوی قارچ مورد نظر، به مدت ۵ روز در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار داده شدند تا کلنی‌های خالص شده رشد نمایند. شناسایی ابتدایی جدایه‌ها با توجه به ویژگی‌های ریخت‌شناختی پرگنه (ویژگی‌های ماکروسکوپی مانند رنگ و نحوه رشد پرگنه، وجود و یا عدم وجود مسیلیوم‌های هوایی) و ویژگی‌های میکروسکوپی بر اساس کلیدهای شناسایی در

۱- منظور از روش خشک کن خارج کردن پیاز از زمینی است که قبلا آبیاری نشده باشد و خاک مزرعه اصطلاحا خشک باشد.

2- Water Agar

3- Potato Dextrose Agar

سطح جنس انجام شد. برای شناسایی جدایه‌هادر سطح گونه،از پرگنه های قارچ مورد نظر اسلاید میکروسکوپی تهیه و بر اساس کلیدهای معتبر شناسایی صورت گرفت (Frisvad and Schipper, 1984 ; Samson, 2004; Leslie and Summerell, 2006).

برای شناسایی قارچ‌های مرتبط با کنه، از روی هر بنه آلوده به قارچ که در مرحله قبل قطعاتی از آن‌ها کشت و قارچ‌های آلوده کننده شناسایی شده بود تعداد ۱۰ عدد کنه ماده هم‌اندازه توسط یک سوزن حشره‌شناسی سترون جداسازی و با هیپوکلریت سدیم ۱٪ بدن این کنه‌ها شستشوی سطحی داده شد. در مرحله بعد بدن این کنه‌های ماده با استفاده از سوزن سترون کاملا له شد و به محیط کشت آب آگار منتقل گردید. برای جلوگیری از رشد باکتری به هریک از محیط های کشت مقدار ۱۰ پی‌پی‌ام آنتی بیوتیک استرپتومایسین اضافه شد. پس از گذشت ۴۸ ساعت خالص‌سازی و تک اسپور کردن پرگنه‌ها بر روی محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار انجام شد. برای شناسایی این قارچ‌های مرتبط با کنه، مشابه روش قبل عمل گردید (Frisvad and Samson, 2004; Leslie and Schipper, 1984 ; Summerell, 2006).

تهیه کلنی خالص مادری و پرورش کنه

کلنی مادری با استفاده از یک کنه ماده جفت‌گیری کرده که قبلا از روی بنه زعفران جداسازی و سپس با تهیه اسلاید میکروسکوپی شناسایی شده بود راه‌اندازی گردید. بدین منظور روی یک قطعه از بادام زمینی یک عدد کنه ماده جفت‌گیری کرده قرار داده شد و پس از گذشت ۴۸ ساعت توسط یک قلم موی ظریف کنه مادر از روی میزبان حذف و تنها تخم‌های گذاشته شده توسط آن نگهداری شد. افراد نر و ماده حاصل از این تخم‌ها توسط قطعاتی از بادام‌زمینی تغذیه و در شرایط کنترل شده آزمایشگاهی و در تاریکی (دمای ۲± ۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۱۰ ± ۷۵ درصد) به مدت ۶ هفته (تا گذشت سه نسل) در داخل قفس‌های پرورشی تکثیر و نگهداری شدند.

تاثیر آلودگی بنه زعفران به قارچ بر زیست‌شناسی و سرعت رشد جمعیت کنه

برای داشتن یک گروه هم سن از کنه‌ها، تعداد ۲۰ عدد کنه ماده بالغ از کلنی اولیه جداسازی و در تاریکی و در دمای۲ ± ۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۱۰ ± ۷۵ درصد قرار گرفت. پس از گذشت ۲۴ ساعت کنه‌های مادر حذف و فقط تخم‌های گذاشته شده توسط آن‌ها برای استفاده در آزمایش نگهداری شدند. برای انجام آزمایش، بنه‌های زعفران به دو گروه آلوده به قارچ و غیر آلوده تفکیک گردید. بدین منظور تعدادی بنه سالم زعفران که فاقد هرگونه آلودگی قبلی بودند (ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم ۱٪ بمدت ۲۰ دقیقه و سپس بنه در معرض جریان هوا قرار داده شد تا رطوبت آن کاهش یابد) انتخاب شد. برای آلوده‌سازی این بنه‌ها به قارچ غالب جداسازی شده، ابتدا پس از خالص سازی قارچ در محیط کشت مایع سیب‌زمینی بروث[1] در فلاسک‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری قرار داده شد و به مدت چهار روز روی شیکر در دمای ۲ ± ۲۵ درجه سلسیوس قرار گرفت تا تکثیر صورت پذیرد. سپس محلول سوسپانسیونی حاوی اسپور را از پارچه ململ عبور و با استفاده از دستگاه سانترفیوژ ۵۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه اسپورها رسوب داده شدند و با استفاده از هموسیتومتر غلظت اسپور در آب مقطر به$۱۰^{۷}$ اسپور در میلی‌لیتر رسانده شد. سپس روی بنه زعفران با سوسپانسیون آماده شده با غلظت مشخص اسپری انجام و این بنه‌ها به مدت یک هفته در دسیکاتور از قبل ضدعفونی شده قرار گرفتند (دمای ۲ ± ۲۵ درجه سلسیوس) تا قارچ مورد آزمایش کاملا در سطح بنه مستقر شده و تولید میسیلیوم نماید. در مرحله بعد در هر واحد آزمایشی یک کنه ماده جفت‌گیری کرده قرار داده شد. در گروه دوم نیز تعداد دیگری از بنه‌های ضدعفونی شده داخل ظروف فاقد آلودگی قرار گرفتند و بعد از گذشت سه روز یک کنه ماده جفت-گیری کرده به هر یک از واحدهای آزمایشی اضافه شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت کنه‌های ماده از واحدهای آزمایشی حذف و تنها تخم‌های تولید شده توسط آن‌ها باقی گذاشته شدند. هر واحد آزمایشی شامل حجره استوانه‌ای شکل به قطر ۱ سانتی‌متر که در داخل تشتک‌های پتری به قطر ۵ سانتی‌متر که کف آن‌ها توسط کاغذ صافی پوشانده شده و حجره‌های استوانه‌ای در داخل تشتک‌ها ثابت شده بودند. برای تغذیه کنه‌ها در داخل هر حجره برش‌های نازکی از بنه‌های زعفران مربوطه (آلوده به قارچ و یا غیر آلوده) قرار داده و برش‌های مزبور هر ۴۸ ساعت یکبار تعویض می‌گردید. برای حفظ رطوبت در واحدهای آزمایشی هر ۲۴ ساعت مقدار ۵۰ میکرولیتر آب مقطر در داخل حجره‌ها چکانده می‌شد. واحدهای آزمایشی حاوی تخم‌های هم سن، روزانه بررسی و تا زمان مشاهده اولین تخم‌گذاری حاصل از کنه‌های رشد یافته از این تخم‌ها مشاهدات ثبت و بدین ترتیب متوسط طول دوره یک نسل کنه (از مرحله تخم تا بلوغ و تخم‌گذاری مجدد) محاسبه گردید. در مجموع ۴۰ تکرار برای هر تیمار در نظر گرفته شد.

برای بررسی و مقایسه نرخ زادآوری[2] کنه در هریک از تیمارها (آلوده به قارچ و یا غیر آلوده)، تعداد ۵۰۰ عدد تخم هم‌سن از کنه‌های ماده بالغ جفت‌گیری کرده از جمعیت اولیه (مادری) جمع آوری شد و سپس این تخم‌ها تحت شرایط غذایی یکسان بر روی قطعاتی از بنه زعفران مربوطه تا مرحله بلوغ پرورش یافتند. پس از بالغ شدن این

1- Potato Broth
2- Fecundity

افراد، تعداد ۲۰۰ عدد کنه نر و ماده هم‌سن انتخاب (نسبت جنسی ۱:۱) و به حجره‌های استوانه‌ای شکل (مشابه آزمایش قبل) منتقل شدند. برای اطمینان از جفت‌گیری تعداد دو عدد کنه نر و دو عدد کنه ماده توسط قلم موی سترون به هر حجره منتقل گردید. این کنه‌ها به مدت ۵ روز قبل از شروع آزمایش از تغذیه محروم و طی این مدت برای جلوگیری از دست رفتن آب بدن هر ۲۴ ساعت آب مقطر به حجره‌ها اضافه می‌گردید. محرومیت کنه‌ها از تغذیه قبل از شروع آزمایش به این دلیل صورت گرفت که ارزیابی دقیق‌تری از تاثیر قارچ ساپروفیت بر نرخ باروری کنه فراهم آید. در مرحله بعد تعداد ۳۰ عدد بنه زعفران هم‌اندازه انتخاب و مشابه آزمایش‌های قبل ضدعفونی و سپس به دو گروه آلوده به قارچ (آلوده‌سازی مشابه روش قبلی) و غیرآلوده تفکیک شدند (۱۵ عدد بنه آلوده به قارچ و ۱۵ بنه غیرآلوده). سپس هر بنه در داخل یک تشتک پتری به قطر ۵ سانتی‌متر که کف آن با کاغذ صافی مرطوب پوشانده شده بود قرار داده شد. از داخل حجره‌های استوانه‌ای یک کنه ماده جفت‌گیری کرده گرسنه توسط یک قلم موی سترون برداشته شده و روی هر بنه (واحد آزمایش) منتقل گردید. تخم‌های گذاشته شده توسط این ماده‌ها هر سه روز یک بارشمارش و سپس توسط قلم مو از واحد آزمایشی حذف می گردید. این عمل به مدت سه هفته متوالی (دوره تقریبی معادل با دو برابر طول دوره یک نسل) ادامه یافت (Wyattand White, 1979). میانگین تعداد تخم / روز / کنه ماده طی دوره زمانی (سه هفته) محاسبه گردید.

آزمون جلب شدن کنه به سمت بنه‌های آلوده به قارچ

برای آزمون جلب شدن کنه *R. robini* به سمت بنه‌های آلوده به قارچ مورد نظر، قطعاتی از بنه آلوده و سالم (به قطر ۵ میلی‌متر) که مطابق روش آزمایش قبل تفکیک و گروه‌بندی شده بودند، با استفاده از یک چاقوی ضدعفونی شده برش داده شده و در چهار طرف تشتک‌های پتری (به قطر ۵ سانتی‌متر) که کف آن با کاغذ صافی مرطوب پوشانده شده بود با فواصل مساوی از یکدیگر و از مرکز تشتک‌ها قرار داده شد، بدین صورت که دو قطعه آلوده به قارچ و دو قطعه غیرآلوده (شاهد) بودند. سپس تعداد مشخصی کنه ماده (۱۰ عدد) در مرکز هر واحد آزمایشی رهاسازی و در فواصل زمانی ۶۰ دقیقه‌ای و برای مدت ۴ ساعت متوالی تعداد کنه‌های روی هر یک از قطعات شمارش و ثبت شد (Ofek *et al*., 2013). در مجموع در این آزمایش ۲۰ تکرار برای هر تیمار انجام شد.

آزمون توانایی نفوذ و کلنی‌سازی کنه روی بنه‌های زعفران

تعدادی بنه هم‌اندازه، هم وزن و کاملا سالم انتخاب و عاری کردن آن‌ها از آلودگی ابتدا بنه‌ها با هیپوکلریت سدیم ۱٪ ضدعفونی شدند و سپس به مدت ۲۰ دقیقه با جریان آب شستشو داده شدند. سپس این بنه‌ها به چهار گروه تیماری شامل کاملا سالم (فاقد آلودگی)، صدمه دیده (صدمه مکانیکی)، آلوده به قارچ و صدمه دیده + آلوده به قارچ تفکیک شدند. برای ایجاد صدمه مکانیکی با استفاده از چاقوی تیز و ضدعفونی شده شکاف کوچکی (به عمق تقریبی ۵ و طول ۱۰ میلی‌متر) در بنه‌های سالم ایجاد شد. آلوده سازی بنه‌ها به قارچ مورد نظر مشابه آزمایش‌های قبلی صورت گرفت. سپس در هر گروه تیماری تعداد پنج عدد کنه بالغ (سه عدد کنه نر + دو کنه ماده) بازای هر واحد آزمایشی (سه عدد بنه زعفران هم‌اندازه داخل تشتک پتری به قطر ۸ سانتی‌متر) رهاسازی شد. طی مدت آزمایش در فواصل زمانی روزانه مشاهدات شامل تعداد کلیه مراحل متحرک کنه روی بنه‌ها در هر واحد آزمایشی با استفاده از استرئومیکروسکوپ به دقت شمارش و ثبت گردید. بنه‌ها طی مدت زمان آزمایش در گروه های تیماری مختلف در شرایط دمایی ۲ ± ۲۷ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۱۰ ± ۷۵ درصد داخل انکوباتور در تاریکی نگهداری شدند. طی مدت زمان آزمایش در برخی تیمارها، مشاهدات تنها تا زمانی که بنه‌های زعفران در اثر تغذیه کنه‌ها کاملا تخریب می‌شدند ادامه و پس از آن خاتمه می‌یافت.

تجزیه‌های آماری

تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری R (نسخه ۴،۱،۱) صورت پذیرفت. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون *t* جفت نشده استفاده شد. در رابطه با داده‌های مربوط به آزمایش جلب شدن کنه به سمت بنه‌های آلوده به قارچ از رویه غیر پارامتریک و آزمون Wilcoxon استفاده شد.

نتایج

قارچ‌های جداسازی شده از بنه‌های آلوده شامل،

Aspergillus niger Vantieghem، *Penicillium* spp.، *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.) Vuillemin، *Embelisia* sp. ، *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler، *Fusarium oxysporum* Schlecht و در رابطه با بدن کنه‌ها همین جنس و گونه‌ها به استثناء *R. stolonifer* و *A. alternata* مشاهده شدند. از آنجایی که گونه قارچی *F. oxysporum* در نمونه‌های مربوط به بنه زعفران و همچنین کنه غالب بود، لذا در ادامه از همین گونه قارچی برای آلوده‌سازی‌ها در آزمایشات روی کنه بنه زعفران استفاده شد.

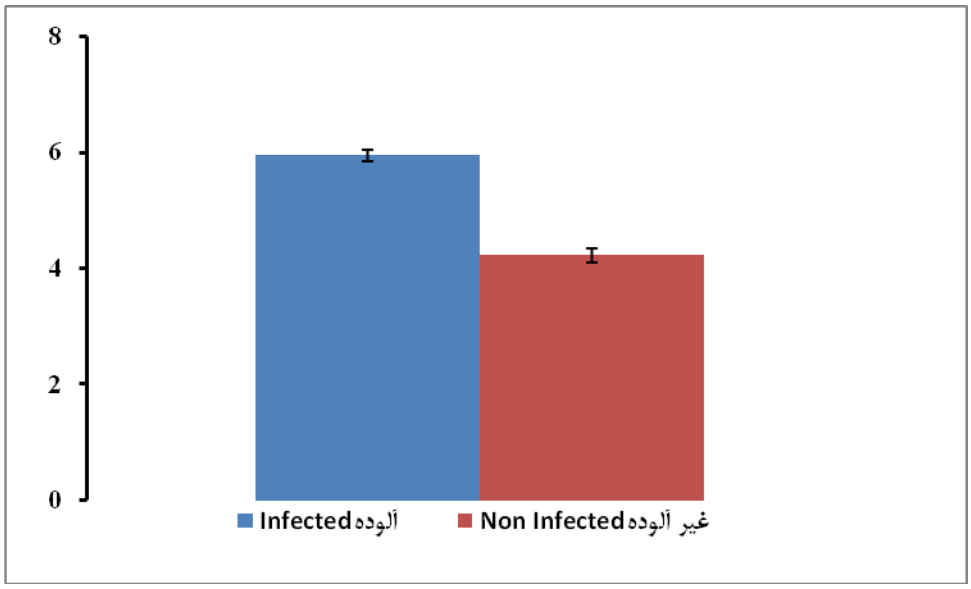
نتایج تاثیرآلودگی به قارچ خاک‌زاد (*Fusarium oxysporum*) بر زیست‌شناسی کنه *Rhizoglyphus robini* در جدول ۱ نمایش داده شده است.

جدول ۱- تاثیر آلودگی بنه زعفران به قارچ خاک‌زاد *Fusarium oxysporum* بر طول مراحل مختلف زیستی کنه بنه زعفران (میانگین ± خطای معیار)

Table 1- Effect of saffron bulb infection to soil born fungi *Fusarium oxysporum* on the duration of different life stages of saffron bulb mite (mean ± standard error)

مرحله زیستی Biological stage	آلوده به قارچ Infected	غیرآلوده(سالم) Healthy	آزمون آماری Test statistic
تخم Egg	3.95 ± 0.087	4.00 ± 0.088	$t = 0.4^{n.s}$ df = 77.99
لارو Larva	2.45 ± 0.08	2.72 ± 0.088	$t = 2.32^{*}$ df = 77.31
پوره سن اول Protonymph	2.12 ± 0.053	2.47 ± 0.08	$t = 3.64^{***}$ df = 67.64
پوره سن آخر Tritonymph	2.15 ± 0.067	2.45 ± 0.081	$t = 28.87^{**}$ df = 75.94
قبل از تخم‌ریزی Pre-oviposition	1.36 ± 0.077	2.04 ± 0.114	$t = 3.8^{***}$ df = 36.69

*P <0.05; **P <0.01; ***P <0.001 and n.s means non-significant difference between treatments.
Each value in the table gives the mean ± SE of different biological stages.



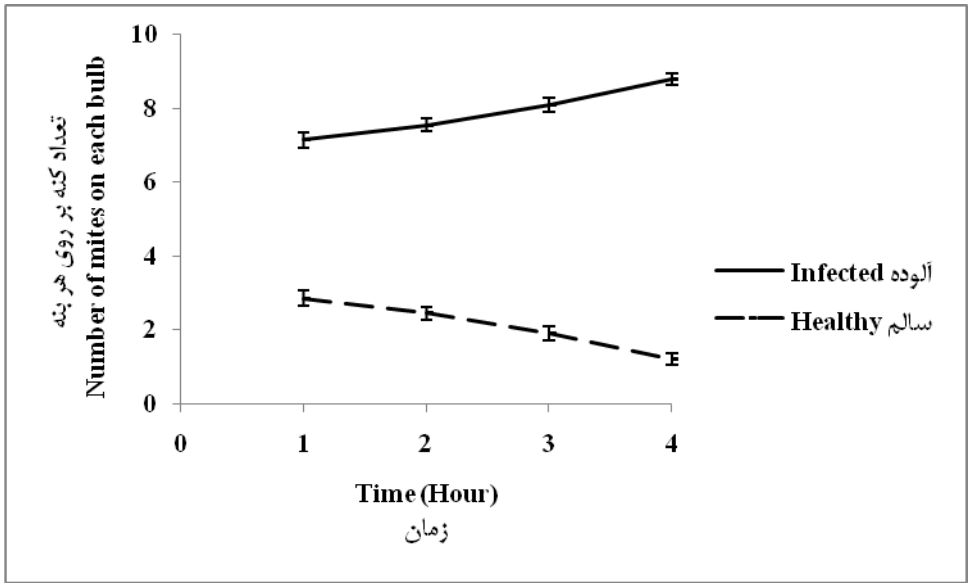
شکل ۱- تاثیر آلودگی بنه زعفران به قارچ خاک‌زاد بر نرخ زادآوری روزانه (تخم/کنه ماده/روز) کنه بنه زعفران

Figure 1- Effect of saffron bulb infection to soil born fungi on daily fecundity (egg/female/day) of saffron bulb mite

همان‌طور که در این جدول مشاهده می‌شود، آلودگی به قارچ مذکور به صورت معنی‌داری بر طول کلیه مراحل زیستی به غیر از مرحله تخم تاثیر گذاشته است.

همچنین نرخ زادآوری روزانه کنه تحت تاثیر آلودگی به قارچ خاک‌زاد به صورت معنی‌داری افزایش یافت (t = 10.79, d.f.= 27.31, P<0.001)(شکل ۱).

واکنش جلب شدن کنه‌ها به سمت بنه‌های زعفران نشان دهنده اختلاف معنی‌داری در رابطه با تمایل کنه‌ها نسبت به قطعات بنه آلوده به قارچ در مقایسه با سالم (غیرآلوده) بود (W= 400, P< 0.001). طی آزمایش و پس از گذشت چهار ساعت تعداد افراد بسیار بیشتری روی قطعات بنه آلوده نسبت به سالم در مقایسه با یک ساعت ابتدایی مشاهده و ثبت شد (شکل ۲).



شکل ۲- جلب شدن کنه *Rhizoglyphus robini* به سمت قطعات آلوده به قارچ *Fusarium oxysporum* و غیرآلوده (سالم) بنه زعفران

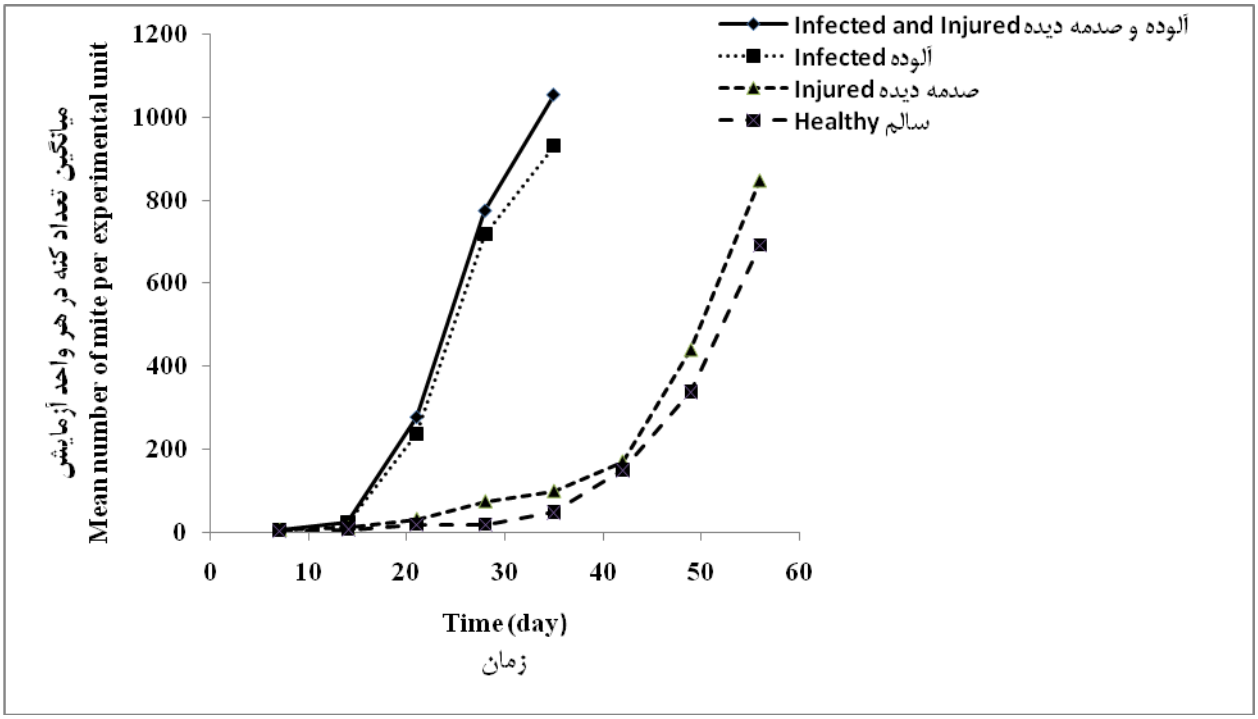
Figure 2- Attraction of *Rhizoglyphus robini* to *Fusarium oxysporum* infected and healthy saffron bulb sections

نتایج آزمایش نفوذ و توانایی کلنی‌سازی کنه نشان داد که روی بنه‌های آلوده به قارچ رشد جمعیت کنه از هفته دوم آغاز و پس از گذشت سه هفته جمعیت به شکل قابل توجهی افزایش یافت. زمانی که بنه‌ها علاوه بر آلودگی به قارچ دچار صدمه مکانیکی نیز بودند روند رشد جمعیت مشابه تیمار آلوده به قارچ اما با اندکی افزایش و سرعت رشد بیشتر بود. روی بنه‌های صدمه دیده نرخ رشد جمعیت کنه نسبت به بنه‌های سالم بیشتر بود اما این نرخ نسبت به بنه‌های آلوده به قارچ بمراتب پایین‌تر بود. روند نفوذ کنه‌ها به داخل بنه زعفران آلوده به قارچ و متعاقبا توان افزایش جمعیت و تشکیل کلنی نشان داد که پس از گذشت دو هفته کنه قادر به نفوذ به داخل بنه بوده و طی هفته‌های سوم الی پنجم به صورت نمایی جمعیت آن افزایش یافت به صورتی که پس از پایان هفته پنجم بنه‌ها کاملا توسط کنه تخریب و چندین کلنی در داخل یک پیاز آلوده قابل مشاهده بود. در این بنه‌ها پوره‌های سن آخر کنه و افراد بالغ به صورت فعالی روی سطح بنه‌ها مشاهده و شرایط کلنی‌ها کاملا با ثبات بود. اما در بنه‌های سالم کنه‌ها تقریبا طی پنج هفته ابتدایی هیچ افزایش جمعیتی نداشتند. رشد جمعیت روی این بنه‌ها طی دو هفته - ابتدایی بسیار کند و حتی با یک روند منفی مشاهده شد. این کنه‌ها طی سه هفته ابتدایی قادر به نفوذ به داخل بنه زعفران نبوده و فقط در سطح بنه باقی می‌ماندند و کلنی پایداری حتی طی هفته چهارم و پنجم شکل نگرفت. پس از پایان هفته پنجم جمعیت این کنه‌ها نیز شروع به رشد نمود و از هفته ششم به بعد این رشد قابل توجه بوده و پس از پایان هفته هشتم به سطحی نزدیک به جمعیت کنه در پایان هفته پنجم روی بنه‌های آلوده رسید (شکل ۳).

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که روی بنه‌های آلوده به قارچ طول مراحل زیستی کنه *R. robini* کوتاه‌تر و نرخ زادآوری آن نیز به مراتب بیشتر می‌شود. در مطالعه‌ای توسط زاجکوسکا (Czajkowska, 1995) نشان داده شده است که نرخ زادآوری کنه *Rhizogluphus echinopus* (Fumouze and Robin) روی پیازهای سوسن (*Lilium*) آلوده به قارچ *F. oxysporum* به شکل قابل توجهی افزایش یافت. تاثیر مثبت آلودگی به قارچ‌های خاک‌زاد بر زیست شناسی و افزایش نرخ زادآوری کنه‌های خاک‌زی در چند پژوهش دیگر نیز گزارش شده است (Ofek *et al.*, 2013; Kasuga and Honda 2006). این امر اساسا می‌تواند ناشی از وجود رژیم غذایی پوسیده‌خواری و توانایی تغذیه از میسلیوم[1] قارچ‌ها توسط کنه‌های متعلق به این جنس از جمله کنه *R. robini* باشد (Diaz *et al.*, 2002; Nesvorna *et al.*, 2012). توانایی این کنه برای هضم میسلیوم به حضور باکتری‌های همزیست تولید کننده کیتیناز در داخل بدن آن‌ها مربوط می‌شود (Zindel *et al.*, 2013). جلب شدن کنه به سمت ترکیبات الکلی استخراج شده از قارچ‌های خاک‌زاد نیز در چند مورد مطالعه گزارش شده است (Ofek *et al.*, 2013; Okabe and Amano, 1990). بر اساس نتایج مطالعه حاضر نیز کنه *R. robini* ترجیح آشکاری به سمت بنه‌های زعفران آلوده به قارچ از خود نشان داد. افزایش نرخ زادآوری روزانه و کاهش طول مراحل مختلف زیستی این کنه خود می‌تواند دلیلی برای این ترجیح میزبانی باشد.

1- mycelium



شکل ۳- تغییرات جمعیت کنه بنه (همه مراحل زیستی متحرک) روی تیمارهای مختلف بنه زعفران (سالم، صدمه دیده، آلوده به قارچ، صدمه دیده و آلوده به قارچ)

Figure 3- Population dynamics of bulb mites (All motile stages) on different saffron bulbtreatments (Healthy, Injured, Infected, Infected and Injured)

با توجه به رفتار ترجیح میزبانی کنه *R. robini* نسبت به بنه‌های آلوده به قارچ، به نظر می‌رسد کاربرد برخی از روش‌های غیرشیمیایی مانند استفاده از کمپوست و یا آفتاب‌دهی[1] که بر علیه عوامل بیمارگر گیاهی از جمله قارچ *F. oxysporum* (Yogev *et al.*, 2006) استفاده می‌شوند به نحوی بر علیه این کنه نیز موثر باشند. به عبارت دیگر، به کار بردن چنین روش‌هایی با کم کردن مایع تلقیح[2] قارچ های ساپروفیت در داخل خاک، جلب کنندگی میزبان گیاهی را برای کنه کاهش می‌دهند. اخیرا در مطالعه‌ای بر روی عوامل مدیریت غیرشیمیایی کنه بنه زعفران، اثرات آفتاب‌دهی خاک و کود دامی روی کاهش جمعیت این کنه بررسی و مشاهده کرده‌اند که آفتاب‌دهی به مدت ۳۰ روز می‌تواند جمعیت کنه را در خاک کاهش دهد (Rahimi and Nateq Golestan, 2020). البته نامبردگان اثرات جانبی آفتاب دهی را بر فلور میکروبی خاک از جمله قارچ‌های خاک‌زاد مورد بررسی قرار نداده‌اند، اما با توجه به نتایج مطالعه حاضر مبنی بر نقش قارچ‌ها در جلب شدن کنه به سمت بنه‌های آلوده، بررسی تاثیر آفتاب‌دهی بر جمعیت قارچ‌های خاک‌زاد و کنه به صورت همزمان لازم به نظر می‌رسد.

نتایج این مطالعه نشان داد که هر چه نفوذ اولیه کنه به داخل بنه (پیاز) سریعتر اتفاق بیفتد متعاقبا رشد جمعیت و توانایی کلنی‌سازی آن نیز افزایش می‌یابد. شایان ذکر است که چنین شرایطی زمانی که بنه زعفران به قارچ آلوده بود و یا اینکه صدمه مکانیکی روی بنه‌ها نیز به صورت همزمان وجود داشت قابل مشاهده بود. مشابه این نتایج در برخی مطالعات دیگر نیز گزارش شده است (Okabe and Amano, 1991). در مطالعات مزرعه‌ای نیز بروز صدمه مکانیکی در حین حمل و نقل بنه‌ها از زمین مادری به زمین اصلی جهت کاشت مجدد، از مهمترین عوامل افزایش جمعیت کنه در مزارع جدید عنوان شده است (Rahimi 2017). همچنین آبیاری تابستانه مزارع زعفران به عنوان یکی دیگر از عوامل گسترش خسارت این آفت گزارش شده است (Rahimi 2017; Koocheki and Khajeh-Hosseini, 2020). به نظر می‌رسد علاوه بر نقش مستقیم رطوبت در رشد و نمو کنه، با افزایش رطوبت در داخل خاک مایع تلقیح قارچ‌های ساپروفیت افزایش یافته و متعاقبا شرایط برای نفوذ کنه و خسارت‌زایی روی بنه های آلوده فراهم می‌گردد.

بنابراین علی‌رغم اینکه در برخی از پژوهش‌های صورت گرفته روی این کنه به نقش کنه در بروز آلودگی ثانویه بنه زعفران به قارچ

1- Solar Sterilization
2- Inoculum

های عامل ایجاد پوسیدگی اشاره شده است (Koocheki and Khajeh-Hosseini, 2020)، اما نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که این کنه احتمالا به عنوان یک آفت ثانویه بنه زعفران را مورد هجوم قرار می‌دهد. به عبارت دیگر ابتدا یک عامل ثانویه مانند عامل قارچی راه را برای نفوذ کنه هموار و سپس کنه قادر به افزایش جمعیت و کلنی‌سازی روی بنه می‌باشد.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این پژوهش، آفت کنه بنه می‌تواند به عنوان یک عامل ثانویه به بنه‌های زعفران حمله و زمانی که آلودگی بنه به قارچ خاک‌زاد وجود نداشته باشد، سرعت رشد جمعیت آن به شدت کاهش یافته و احتمالا به تنهایی توانایی افزایش جمعیت و رسیدن به مرحله خسارت‌زایی را نخواهد داشت. بنابراین در برنامه مدیریت تلفیقی این آفت، بایستی خسارت کنه را در ارتباط با آلودگی همزمان بنه‌ها به قارچ‌های خاک‌زاد بررسی نمود و سپس با توجه به مساله اولیه یا ثانویه بودن منشاء خسارت، اقدام مدیریتی متناسب بر مبنای مهار جمعیت کنه و قارچ به صورت همزمان اتخاذ گردد.

منابع

1. Afzali, H. (2004). *Introduction of a new causal agent of saffron corn rot in Iran*. Proceedings of the16th Iranian Plant Protection Congress, vol. II,28 August to 1 September 2004, Tabriz, Iran.326p.
2. Agricultural Statistics. (2018). Iran's Minister of Agriculture, Department of Planning and Economy. http://www.maj.ir/.
3. Ahmadi, K., Ebadzadeh, H., Hatami, F., Mohammadnia, A.Sh., Taghani, R.A., Yari, Sh. & Kalantari, M. (2021). *Iran agricultural statistics of the year 2020*. Ministry ofAgriculture-Jahad. 163 pp.
4. Asadi, G.A., Rezvani Moghaddam, P., & Hassanzadeh Aval, F. (2014). Effects of soil and foliar applications of nutrients on corm growth and flower yield of saffron (*Crocus sativus* L.) in six year-old farm. *Saffron Agronomy and Technology* 2: 31–44. (In Persian with English abstract)
5. Czajkowska, B. (1995). *Acarid mites: pests of lilies*. In: Kropczynska D, Boczek J, Tomczyk A (eds) The acari, vol 1. Dabor, Warszawa, pp 479–485.
6. Diaz, A., Okabe, K., Eckenrode, C.J., Villani, M.G., &Oconnor, B.M. (2000). Biology, ecology, and management of the bulb mites of the genus *Rhizoglyphus* (Acari: Acaridae). *Experimental and Applied Acarology* 24: 85–113.
7. Di Primo, P., Cappelli, C., & Katan, T. (2002).Vegetative compatibility grouping of *Fusarium oxysporum*f. sp. *gladioli* from saffron. *European Journal of Plant Pathology* 108: 869–875.
8. Fashing, N.J., & Hefele, W.J. (1990). *Biology of Rhizoglyphus robini* (Astigmata: Acaridae) *reared on Bot and Meyer artificial medium*. p. 499-503. In: Dusbabek F., Bukva V.(eds) Modern Acarology, vol 2. SPB Academic Publishing.
9. Frisvad, J.C., & Samson, R.A. (2004). Poly phasic taxonomy of *Penicillium* sun genus *Penicillium*. A guide to identification of food and air-borne terverticillate Penicillia and their mycotoxins. *Studies in Mycology* 49: 1–174.
10. Kasuga, S., & Honda, K.I. (2006). Suitability of organic matter, fungi and vegetables as food for *Tyrophagus similis* (Acari: Acaridae). *Applied Entomology and Zoology* 41: 227–231. http://doi.org/10.1303/aez.2006.227.
11. Koocheki, A., & Khajeh-Hosseini, M. (2020). Saffron*:* science, technology and health. p. 169-185. In: Bazoobandi, M., Rahimi, H., Karimi-shahiri, M.R. (eds) *Saffron Crop Protection*, vol 1. Elsevier, Woodhead Publishing.
12. Leslie, J.F., & Summerell, B.A. (2006). *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell publishing. http://doi.org/10.1002/9780470278376.
13. Najari, G., Nourollahi, K., & Piri, M. (2018). The first report of (*Fusarium oxysporum*) causal agent of wild saffron corm rot disease in Iran. *Saffron Agronomy and Technology* 6: 119-123. (In Persian with English abstract)
14. Nehvi, F.A., & Yasmin, S. (2017). Advance in saffron research for integrated development ofsaffron in Kashmir, India. *Acta Horticulture*1184: 6368.DOI:10.17660/ActaHortic.2017.1184.9
15. Nesvorna, M., Gabrielova, L., & Hubert, J. (2012). Suitability of a range of *Fusarium* species to sustain populations of three stored product mite species (Acari: Astigmata). *Journal of Stored Production Research* 48:37–45. http://doi.org/10.1016/j.jspr.2011.08.006.
16. Okabe, K., & Amano, H. (1990). Attractancy of Alcohols isolated from culture filtrates of *Fusarium* fungi for therobine bulb mite, *Rhizoglyphus robini* CLAPAREDE (Acari: Acaridae), in sand. *Applied Entomology and Zoology* 25: 397–404. http://doi.org/10.1303/aez.25.397.
17. Okabe, K., & Amano, H. (1991). Penetration and population growth of the robine bulb mite, *Rhizoglyphus robini* Claparede (Acari: Acaridae), on healthy and *Fusarium*-infected rakkyo bulbs. *Applied Entomology and Zoology* 26: 129–136. http://doi.org/10.1303/aez.26.129.
18. Ofek, T., Gal, S., Inbar, M., Lebiush-Mordechai, S., Tsror, L., & Palevsky, E. (2013). The role of onion-associated fungi in bulb mite infestation and damage to onion seedlings, *Experimental and Applied Acarology* 62(4): 437–448. http://doi.org/10.1007/s10493-013-9750-2.

19. Rahimi, H., & Kamali, K. (1993). Laboratory studies on biology of bulb mite *Rhizoglyphus robini* (Acari; Acaridae) and its damage on saffron corm in Gonabad and Ghayen. *Scientific Journal of Agriculture* 16: 53–63. (In Persian with English abstract)
20. Rahimi, H., Mokhtarian, A., Bazoobandi, M., Rahimi, H., Kiani, M., & Behdad, M. (2008). Effects of sowing depth and summer irrigation on *Rhizoglyphus robini* (Acari: Acaridae) population in Gonabad. *Applied Entomology and Phytopathology 76*(1): 1–-12. (In Persian with English abstract)
21. Rahimi, H. (2017). *Saffron Pests (Identification and Management).* Sokhangostar Press. 76p. (In Persian)
22. Rahimi, H., & Nategh Golestan, M. (2020). Preliminary study on non-chemical management factors for bulb mite *Rhizoglyphus robini* (Acari: Acaridae) control in the saffron crop. *Journal of Crop Protection 9*(2): 251–259.
23. Rashed-Mohassel, M.H. (2019). *Evolution andbotany of saffron (Crocus sativus L.) and allied species*. In A. Koocheki and M. Khajeh Hosseini (eds). Saffron: Science, Technology and Health. Elsevier Inc. pp. 37–57.
24. Saeedizadeh, A. (2014). Identification of some saffron corm rot fungi and their control. *Saffron Agronomy and Technology* 2: 205–213. (In Persian with English abstract)
25. Schipper, M.A.A. (1984). A revision of the genus *Rhizopus*. I. The *Rh. stolonifer*-group and *Rhizopus oryzae*. *CBS Studies in Mycology* 25: 1–19.
26. Smiley, R.W., Gourlie, J.A., Easley, S.A., Patterson, L.M., & Whittaker, R.G. (2005). Crop damage estimates for crown rot of wheat and barley in the Pacific Northwest. *Plant Disease* 89: 595–604. http://doi.org/10.1094/PD-89-0595.
27. Wooddy, M.W., & Fashing, N.J. (1993). The ability of *Rhizoglyphus robini* Claparède (Astigmata: Acaridae) to subsist solely on a diet of filter paper, *International Journal of Acarology 19*(4): 345–348. http://doi.org/10.1080/01647959308683990.
28. Wyatt, I.J., & White, P.F.(1979). Simple estimation of intrinsic increase rates for aphids and tetranychid mites. *Journal of Applied Ecology* 14: 757–766.
29. Yogev, A., Raviv, M., Hadar, Y., Cohen, R., & Katan, J. (2006). Plant waste-based composts suppressive to diseases caused by pathogenic *Fusarium oxysporum*. *European Journal of Plant Pathology* 116: 267–278. http://doi.org/10.1007/s10658-006-9058-8.
30. Zindel, R., Ofek, M., Minz, D., Palevsky, E., Zchori-Fein, E., & Aebi, A. (2013). The role of the bacterial community in the nutritional ecology of the bulb mite *Rhizoglyphus robini* (Acari:Astigmata: Acaridae). *Federation of American Societies for Experimental Biology 27*(4): 1488–1497. http://doi.org/10.1096/fj.12-216242.