

## گزارش طغیان زنبور برگخوار درخت زبان گنجشک (*Tomostethus* sp. (Hymenoptera: Tenthredinidae)) از ایران

مجید توکلی<sup>۱</sup>، اسداله حسینی چگنی<sup>۲\*</sup> و صمد خاقانی نیا<sup>۳</sup>

۱- سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی لرستان، خرم‌آباد، ایران.  
(majid.tavakoli43@gmail.com)

۲- استادیار، گروه گیاهپزشکی (مرکز آموزش عالی پلدختر)، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، لرستان، ایران.  
(hosseinichegeni@gmail.com)

۳- دانشیار، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. (skhaghaninia@gmail.com)

تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۵/۰۱

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۰/۲۳

### چکیده

تاکنون آفات متعددی از روی درختان زبان گنجشک گزارش شده و زنبورهای برگخوار زبان گنجشک از جنس *Tomostethus* در زیر خانواده Blennocampinae یکی از آفات مهم این درخت است به طوری که مواردی از طغیان آن در اروپا گزارش شده است. پژوهش حاضر در بهار سال ۱۳۹۶ طی طغیان شدید زنبور برگخوار زبان گنجشک در استان آذربایجان غربی، مناطق جنگلی زاگرس شمالی انجام شد. شناسایی نمونه‌های جمع‌آوری شده زنبور با روش مولکولی و توالی‌یابی قسمتی از ژن *COI* انجام شد. نتیجه بلاست توالی‌ها در بانک ژن نشان داد که توالی این حشره متعلق به جنس *Tomostethus* و شبیه به گونه *T. nigritus* با شباهت ۹۲ درصد است. زنبور برگخوار درختان زبان گنجشک به شکلی آرام در حاشیه رودخانه زاب در استان آذربایجان غربی در حال پراکنده شدن است. پژوهش اولیه حاضر در مورد وجود و شیوع این آفت در زاگرس شمالی باید به صورت جدی مورد توجه قرار گیرد. توصیه می‌شود جزئیات جنبه‌های کنترل و نظارت شدید، برای مدیریت این آفت مهاجم برای متولیان امر حفاظت جنگل‌ها، در آینده مورد بررسی قرار داده شود.

واژه‌های کلیدی: زاگرس شمالی، زبان گنجشک، زنبور، طغیان، *COI*.

## مقدمه

استقرارشان بسیار مقاوم هستند و نقش مهمی در حفاظت از خاک نیز دارند. از طرف دیگر، به دلیل تقاضای بالا برای چوب این درخت، برنامه‌های اصلاح-نژادی و ژنتیکی برای گونه‌های مختلف در چند کشور اروپایی انجام شده است (Thomas, 2016). تاکنون آفات متعددی از روی درختان زبان‌گنجشک در اروپا گزارش شده‌اند، به طوری که در بریتانیای کبیر از ۱۰۵ حشره و کنه (مایت) آفت نام برده شده که از این درخت تغذیه می‌کنند (Thomas, 2016) و میزبان اختصاصی تعدادی از این آفات منحصراً درخت زبان‌گنجشک است (Alford, 2012). زنبورهای برگ‌خوار زبان‌گنجشک جنس *Tomostethus* Konow, 1886 از زیر خانواده *Blennocampinae* یکی از آفات مهم این درخت است به طوری که مواردی از طغیان آن در اروپا گزارش شده است (Austara, 1991; Matošević et al., 2003a; Matošević et al., 2003b). گونه‌های مختلف زبان-گنجشک میزبان اختصاصی این زنبور هستند. ولی ظاهراً درخت زبان‌گنجشک سبز (*Fraxinus pennsylvanica*) نسبت به این زنبور مقاوم است (Langford and McConnell, 1935). البته دیگر زنبورهای زیر خانواده *Blennocampinae* مانند *Eupareophora* sp. هم سبب بروز خسارت جدی به درخت زبان‌گنجشک و ایجاد حالت طغیانی شده‌اند (Williams, 2007). بروز پدیده نوظهور زوال زبان‌گنجشک (*Ash decline / dieback*) در *F. angustifolia* از سال ۱۹۹۲ در برخی از نقاط اروپا و امریکا پیدا و تأیید شده است، به طوری که بسیاری از محققان تعدادی از آفات چوب‌خوار، برگ-خوار، عوامل بیمارگر قارچی و باکتریایی و تنش‌های محیطی همچون خشکسالی را به‌عنوان عوامل اصلی در بروز این پدیده معرفی کرده‌اند (Bricker and Stutz, 2004; Keßler et al., 2012). بنابراین نظام‌های مراقبت هشدار سریع به‌منظور مدیریت بحران در عرصه‌های

زبان‌گنجشک *Fraxinus angustifolia* Vahl 1804 متعلق به تیره *Oleaceae* است. درختی خزان‌کننده با تاج باریک و ارتفاع در حدود ۸ تا ۱۵ متر است، دارای جوانه‌های انتهایی به رنگ قهوه‌ای تیره و اغلب چهارگوش هستند (Boshier et al., 2005; Thomas, 2016). این گونه در سراسر جنوب و شرق اروپا دیده می‌شود. اما در غرب تا پرتغال و اسپانیا هم ادامه دارد. در شرق به طرف اسلواکی، ترکیه (Dobrowolska et al., 2011) (مدیترانه و دریای سیاه)، سوریه، قفقاز، غرب ایران و جنوب روسیه گسترش یافته است. گونه *F. angustifolia* شباهت زیادی با گونه *F. excelsior* دارد. ریخت‌شناسی این گونه بسیار متغیر است به طوری که چندین تاکسون از این گونه توصیف شده است (Boshier et al., 2005). زبان‌گنجشک یک گونه درختی با ارزش اقتصادی است که به صورت پراکنده در جنگل‌های مرطوب، نیمه‌مرطوب و مناطق نیمه خشک کشور ایران می‌روید. انواع درختی و درختچه‌ای آن به وفور در اغلب مناطق رویشی وجود دارد. این درخت در گیلان، تلک و تلکوچی، در کردستان و بختیاری، بنو و در لرستان به اسامی ون و یا ونو نامیده می‌شود (Sabeti, 1994). زبان‌گنجشک یک گونه معمول در دامنه‌ها، دره‌ها، حاشیه آبراهه‌ها، رودخانه‌ها و فضا‌های سبز شهری است، که در مناطقی با دامنه‌های ارتفاعی مختلف می‌روید، گرده افشانی آن با باد انجام می‌گیرد و روش تکثیر آن شامل درختان تک پایه نرها و ماده‌های انفرادی و دوجنسی (هرمافرودیت) بینابینی است. زبان-گنجشک نیاز به خاک غنی دارد، دامنه تحمل آن در خاک‌های با حداقل pH حدود ۴/۵ است، اما خاک‌های با pH بالاتر از ۵/۵ را هم ترجیح می‌دهد. این درخت دارای ارزش اکولوژیکی بالایی است، در برابر ورود جریان سیلاب‌های فصلی در جنگل‌ها و مناطق

با توجه به اینکه مرحله شفیرگی حشره در داخل خاک طی می‌شود، پرورش آن در شرایط آزمایشگاه مشکل بوده از این رو به منظور شناسایی و تأیید تشخیص حشره، پژوهش‌های مولکولی روی آن انجام شد.

#### پژوهش‌های مولکولی

استخراج DNA، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز، چرخه دمایی

#### و بررسی کیفی محصول PCR

استخراج DNA با روش CTAB انجام شد (Doyle and Doyle, 1987). پس از اطمینان از کمیت و کیفیت DNA به وسیله اسپکتوفوتومتر و ژل آگاروز، محصول استخراج در واکنش زنجیره‌ای پلیمرز مورد استفاده قرار گرفت. مواد، مقادیر مورد نیاز آن‌ها برای انجام هر بار واکنش PCR و غلظت اجزای واکنش (مقدار بر حسب میکرولیتر: غلظت نهایی برای 25 μl) شامل: 14/8 μl آب استریل، 2/5 μl بافر واکنش (10x-Bioflux®)، 1 μl کلرید منیزیم (50 mM-Bioflux®)، 1 μl آغازگر رفت (10 μM)، 1 μl آغازگر برگشت (10 μM)، 0/5 μl نوکلئوتیدهای آزاد (10 mM-Bioflux®)، 0/5 μl آنزیم تک پلیمرز (5 U/μl-Bioflux®) و 4 μl DNA الگو (50-100 ng/μl) بودند. پرایمرهای مورد استفاده شامل: رفت (LCO1490: 3'-GGT CAA CAA ATC ATA) و برگشت (HCO2198: 3'-AAG ATA TTG G) و برگشت (5'-CAG GGT GMC CAA AAA ATC) اکتباس از Folmer و همکاران (1994) با کمی تغییرات بودند. چرخه دمایی بهینه برای تکثیر قطعه COI براساس الگوی دمایی تاج داوون (Touchdown) به صورت مرحله؛ دما (درجه سلسیوس)؛ زمان (ثانیه) عبارت است از: 1. واسرشته‌سازی اولیه؛ 95؛ 300؛ 2. واسرشته‌سازی؛ 94؛ 50؛ 3. اتصال؛ 60-50؛ 50؛ 4. گسترش؛ 72؛ 60 و 11 بار تکرار مراحل 2 تا 4 به طوری که در هر بار دمایی اتصال یک درجه کم‌تر می‌شود تا به 50 برسد. سپس 5. واسرشته‌سازی؛ 94؛ 50؛ 6. اتصال؛ 50؛ 50؛ 7. گسترش؛

جنگلی منطقه رویشی زاگرس یک ضرورت اجتناب-ناپذیر است. با توجه به اهمیت درخت زبان گنجشک در توسعه زیست بوم‌های جنگلی منطقه زاگرس شمالی، پژوهش حاضر به منظور شناسایی و معرفی یک آفت مهم و خسارت‌زای نوظهور و انحصاری این درختان طراحی و انجام شد.

#### مواد و روش‌ها

##### منطقه مورد بررسی

این پژوهش در بهار سال 1396 طی طغیان شدید زنبور برگ‌خوار زبان گنجشک در استان آذربایجان غربی، مناطق جنگلی زاگرس شمالی، از کیلومتر 25 شهرستان پیرانشهر به سمت سردشت و در حاشیه رودخانه زاب و آبراهه‌های مجاور، به‌ویژه منطقه تفرجی پردانان انجام شد. شرایط اقلیمی حاکم بر این منطقه، جنگلی از نوع مدیترانه‌ای نیمه‌خشک با نزولات جوی 650-450 میلی‌متر در سال است. گونه غالب درختی جنگل‌های منطقه را بلوط مازودار تشکیل می‌دهد.

##### جمع‌آوری نمونه

جمع‌آوری لاروها به منظور پرورش و اندازه‌گیری (میکرومتری) و شناسایی آن‌ها، در فاصله زمانی طغیان آفت، اواخر اردیبهشت ماه و با روش‌های ضربه‌ای از روی درختان قطور، تورکشی از روی درختچه‌ها و با استفاده از پنس از روی درخت زبان گنجشک (*F. angustifolia*) و پیرامون طوقه آن‌ها انجام گرفت. نمونه‌های جمع‌آوری شده به آزمایشگاه مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی لرستان انتقال داده شدند. در آزمایشگاه ابتدا تعدادی از آن‌ها به وسیله استریومیکروسکوپ، میکرومتری و مورد شناسایی مقدماتی قرار گرفتند. همچنین تعدادی از لاروهای جمع‌آوری شده از مناطق آلوده برای پرورش تا مرحله بلوغ به ظروف پرورشی در آزمایشگاه منتقل شدند. از طرفی

اختصاص داده شد. برای مقایسه توالی‌های بانک ژن و توالی تحقیق حاضر همه آن‌ها توسط نرم‌افزار SeaView (Gouy *et al.*, 2009) هم‌تراز شدند. مقدار فاصله ژنتیکی یا اختلاف نوکلئوتیدی بین توالی‌های یک گونه یا توالی‌های مربوط به گونه‌های مختلف با استفاده از مدل تلفیقی بیشترین احتمال (MCL) در نرم‌افزار MEGA<sup>®</sup> (نسخه ۷) (Tamura *et al.*, 2013) محاسبه شد و به‌عنوان شاخص اندازه‌گیری مقدار تنوع درون و بین گونه‌ای توالی‌های نوکلئوتیدی تاکسون‌های مورد پژوهش در نظر گرفته شد. به‌منظور ترسیم درخت‌های تبارشناسی با روش‌های تفسیر Bayesian از نرم‌افزار BEAST (Drummond *et al.*, 2012) استفاده شد. بعد از ترسیم درخت تبارشناسی وضعیت تک‌نیایی جنس *Tomostethus* و موقعیت گروه‌های خارجی *Eutomostethus* و *Claremontia Pristiphora* حالت پلی‌تومی درخت، مقدار صحت کلاد اصلی *Tomostethus* براساس مقدار آزمون احتمال ثانویه (Posterior probability) و در نهایت قرابت تاکسون-های کلاد مورد پژوهش نسبت به یکدیگر مورد بررسی قرار داده شد.

### نتایج

#### بررسی‌های ریخت‌شناسی آفت

با بررسی‌های مقدماتی انجام شده روی تعدادی از لاروهای این آفت مشخص شد با توجه به این‌که این لاروها از نوع اروسیفرم با بیش از پنج جفت پای کاذب بودند زنبور بودن آن‌ها محرز است (شکل ۱ قسمت D). رنگ لارو در سرتاسر مراحل رشد و نمو دوره لاروی تغییر می‌کند، لاروهای سن اول که از تخم خارج می‌شوند شفاف هستند، لاروهای سنین دوم، سوم و چهارم

۷۲؛ ۶۰ و ۲۴ بار تکرار مراحل ۵ تا ۷ در مجموع ۳۵ چرخه و در نهایت مرحله ۸ گسترش نهایی؛ ۷۲؛ ۳۰۰. به‌منظور بررسی تکثیر قطعه DNA مورد نظر (ناحیه ژنی مورد نظر)، ژل آگارز یک درصد مورد استفاده قرار گرفت و در دستگاه ژل داگ (-UVITEC<sup>®</sup> Cambridge) بررسی شد.

#### توالی‌یابی و ویرایش توالی‌ها

قطعات تکثیرشده مورد نظر برای توالی‌یابی توسط شرکت تجاری فزایژه (ایران) ارسال شد. توالی‌یابی برای ژن *COI* به‌صورت یک طرفه از سمت آغازگر رفت (LCO1490) انجام شد. توالی‌ها توسط نرم‌افزار Finch TV<sup>®</sup> (نسخه 1.4.0) بررسی و در صورت نیاز ویرایش شدند. ویرایش بر اساس مشاهده پیک‌های مربوط به هر نوکلئوتید انجام شد.

#### پژوهش‌های تبارشناسی

بلاست کردن، ثبت توالی در بانک ژن، فواصل ژنتیکی و درخت تبارشناسی

قبل از استفاده از توالی‌ها در پژوهش‌های تبارشناسی ابتدا هر توالی به‌صورت جداگانه در قسمت بلاست تارنمای بانک جهانی ژن به آدرس <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> مورد بلاست قرار گرفت تا بدین وسیله از صحت توالی ناحیه مورد بررسی و انطباق آن با گونه‌های مشابه اطمینان حاصل شود. پس از بلاست توالی، تعدادی از توالی‌های *COI* جنس‌های *Tomostethus*، *Pristiphora*، *Claremontia* و *Eutomostethus* بانک ژن برای مقایسه با توالی *COI* بررسی حاضر در درخت تبارشناسی مورد استفاده قرار گرفتند. بعد از ویرایش و اطمینان از صحت توالی، توالی به بانک ژن ارسال و بعد از بارگزاری در تارنمای بانک ژن به آدرس [www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/submit](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/submit) و تأیید آن توسط متخصصین مربوطه، برای آن یک کد دسترسی

به رنگ سبز روشن هستند، پوستک‌های لاروی را می‌توان به وفور و بر روی پوست تنه درختان آفت‌زده مشاهده کرد.

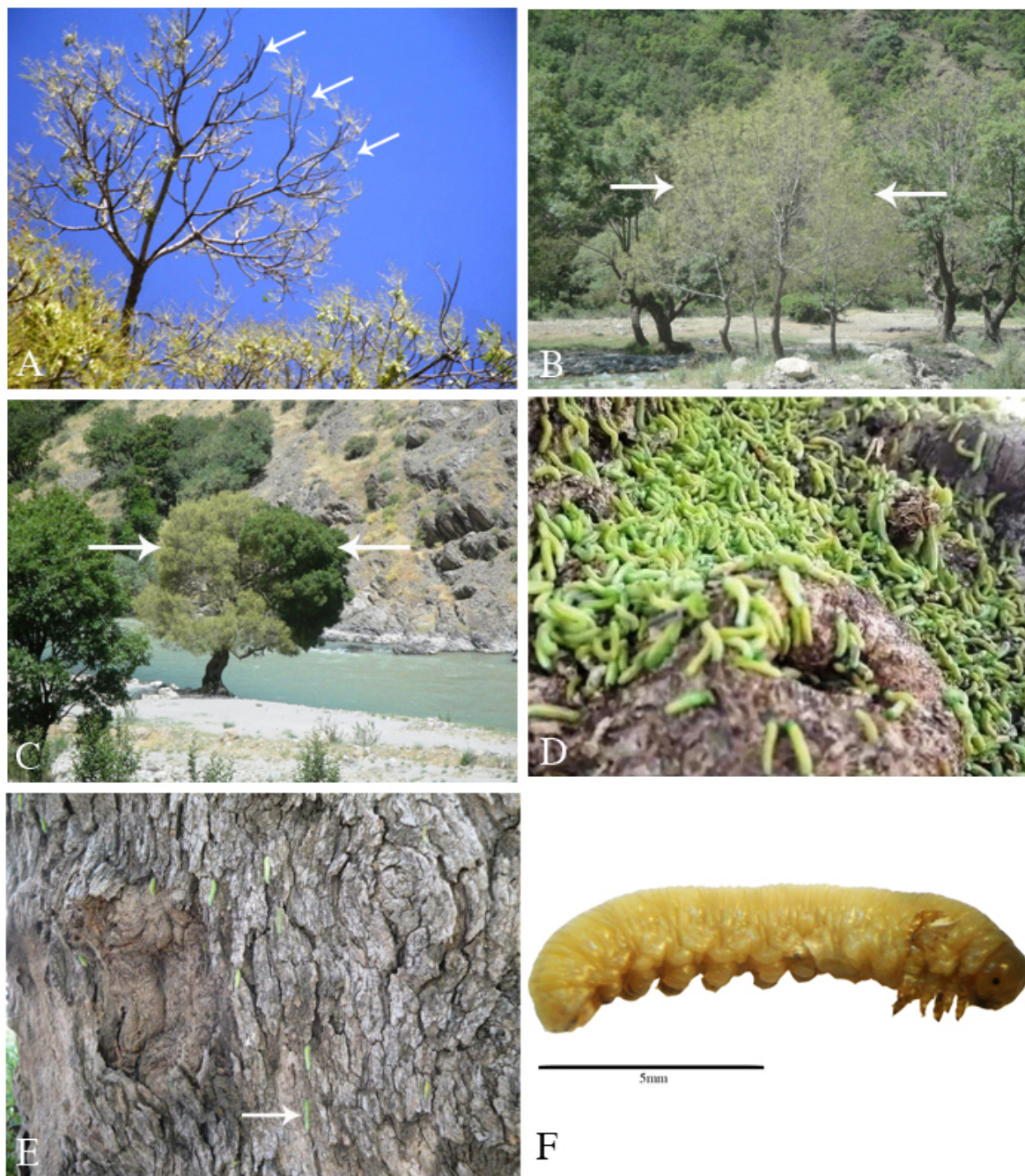
#### تراکم و شکل خسارت آفت روی درختان

در این پژوهش چهار مکان استقرار و طغیان زنبور برگ‌خوار درخت زبان گنجشک مورد نمونه‌برداری قرار گرفت (جدول ۱). شیوع و طغیان شدید زنبور برگ‌خوار زبان گنجشک *Tomostethus* sp. برای اولین بار از ایران مشاهده و گزارش می‌شود. خسارت این آفت به درختان میزبان بسیار جدی است. لاروها به‌طور کامل برگ درختان زبان گنجشک را از بین می‌برند و فقط رگبرگ‌های میانی و اصلی باقی می‌مانند. زیر درختان توده‌ای از فضولات آن‌ها به‌وفور دیده می‌شود. پس از خوردن کامل برگ درختان، لاروها به‌روی زمین سقوط کرده و با جمعیت انبوه اطراف طوقه درختان جمع شده و شروع به بالا رفتن از تنه درختان می‌کنند (شکل ۱ قسمت C). این حشره به‌شکلی آرام در حاشیه رودخانه زاب پراکنده شده است. تراکم و شکل خسارت آفت روی درختان زبان گنجشک در برخی از مناطق محل خسارت آفت، در شکل ۱ (A و B) آورده شده است.

جدول ۱- محل‌های جمع‌آوری نمونه واقع در استان آذربایجان غربی

Table 1- The sample collection sites located in West Azarbayjan province

شماره	محل جمع‌آوری	مختصات جغرافیایی	ارتفاع از سطح دریا (متر)
Number	Collection site	Coordinates	Altitude above sea level (m)
1	جنوب پیرانشهر - منطقه تفرجگاهی پردانان South of Piranshahr-Perdanan recreational area	45° 18' 59" E 36° 28' 18" N	1283
2	پیرانشهر-میرآباد حاشیه رودخانه زاب (مسیر یک) Piranshahr-Mirabbad- Zab river basin (route 1)	45° 19' 54" E 36° 28' 31" N	1253
3	پیرانشهر - میرآباد حاشیه رودخانه زاب (مسیر دو) Piranshahr-Mirabbad- Zab river basin (route 2)	54° 20' 04" E 36° 27' 45" N	1249
4	پیرانشهر - میرآباد حاشیه رودخانه زاب (مسیر سه) Piranshahr-Mirabbad- Zab river basin (route 3)	45° 20' 46" E 36° 26' 25" N	1219



شکل ۱- زنبور برگخوار درختان زبان گنجشک و آثار خسارت آن؛ A: سرشاخه‌های عاری از برگ درخت که تنها رگبرگ‌های اصلی آن‌ها باقی مانده است (فلش سفید)، B: نمای کلی درخت آفت‌زده (فلش سفید)، C: یک نمونه درخت که نیمی از آن آفت‌زده و بخش دیگر آن به سمت رودخانه، دست نخورده مانده است (فلش سفید)، D: جمعیت انبوه لاروهای اطراف طوقه درخت، E: حمله لاروها و صعود آن‌ها از تنه درخت (فلش سفید)، F: نیم‌رخ کلی لارو سن آخر (پنجم). (تصاویر با اصالت)

Figure 1- The ash sawfly and its damages; A: Leaf-free branches that remain only their main veins (white arrow), B: Schematic representation of a defoliated tree (white arrow), C: An example of a tree, half of which is damaged and the other part is towards the river, remains intact (white arrow), D: The massive overcrowded larvae around the crown's tree, E: Attacking of the larvae and climb of them from tree trunk (white arrow), F: The side view of the last larval instar (fifth) (Original figures).

*Pristiphora* و *Tomostethus* جنس‌های *Eutomostethus* و *Claremontia* به‌عنوان گروه خارجی در جدول ۲ آورده شده است. درخت تبارشناسی مربوط به گونه‌های این پژوهش و توالی‌های بانک ژن در شکل ۲ آورده شده است. گونه *punctatus* *Eutomostethus* نزدیک به جنس *Tomostethus* به-عنوان تاکسون خواهری به‌صورت گروه خارجی (Outgroup) در درخت تبارشناسی قرار گرفت. درخت تبارشناسی به‌صورت یک درخت کاملاً تفکیک شده (Fully resolved) یعنی تک‌نیایی بودن جنس *Tomostethus* حالت دو شقی (Dichotomy) و مقدارهای صحت (آزمون احتمال ثانویه) با نمره کامل (صد درصد) در محل گره‌ها (به استثناء محل گره کلاد *Tomostethus*) ایجاد شد.

بررسی‌های مولکولی و پژوهش‌های تبارشناسی واکنش زنجیره‌ای پلیمرز، توالی یابی و بلاست از تعداد پنج نمونه لارو که مورد استخراج DNA قرار گرفتند PCR ژن مورد نظر برای یک نمونه مثبت شد. نمونه محصول PCR مثبت، توالی یابی و توالی بعد از ویرایش دستی در بانک ژن ثبت شد. پس از تأیید متخصصان مربوطه در بانک ژن، شماره دسترسی MG640375 به آن اختصاص داده شد. نتیجه بلاست توالی‌ها در بانک ژن نشان داد که توالی پژوهش حاضر متعلق به زنبور *Tomostethus* sp. که شباهت با گونه *T. nigratus* با شباهت ۹۲ درصد است.

#### فواصل ژنتیکی و درخت تبارشناسی

فواصل ژنتیکی به‌عنوان شاخص تنوع ژنتیکی درون گونه‌ای و بین گونه‌ای قسمتی از توالی *COI* جنس

جدول ۲- تنوع ژنتیکی بین توالی‌های *COI* پژوهش حاضر و توالی‌های بانک ژن

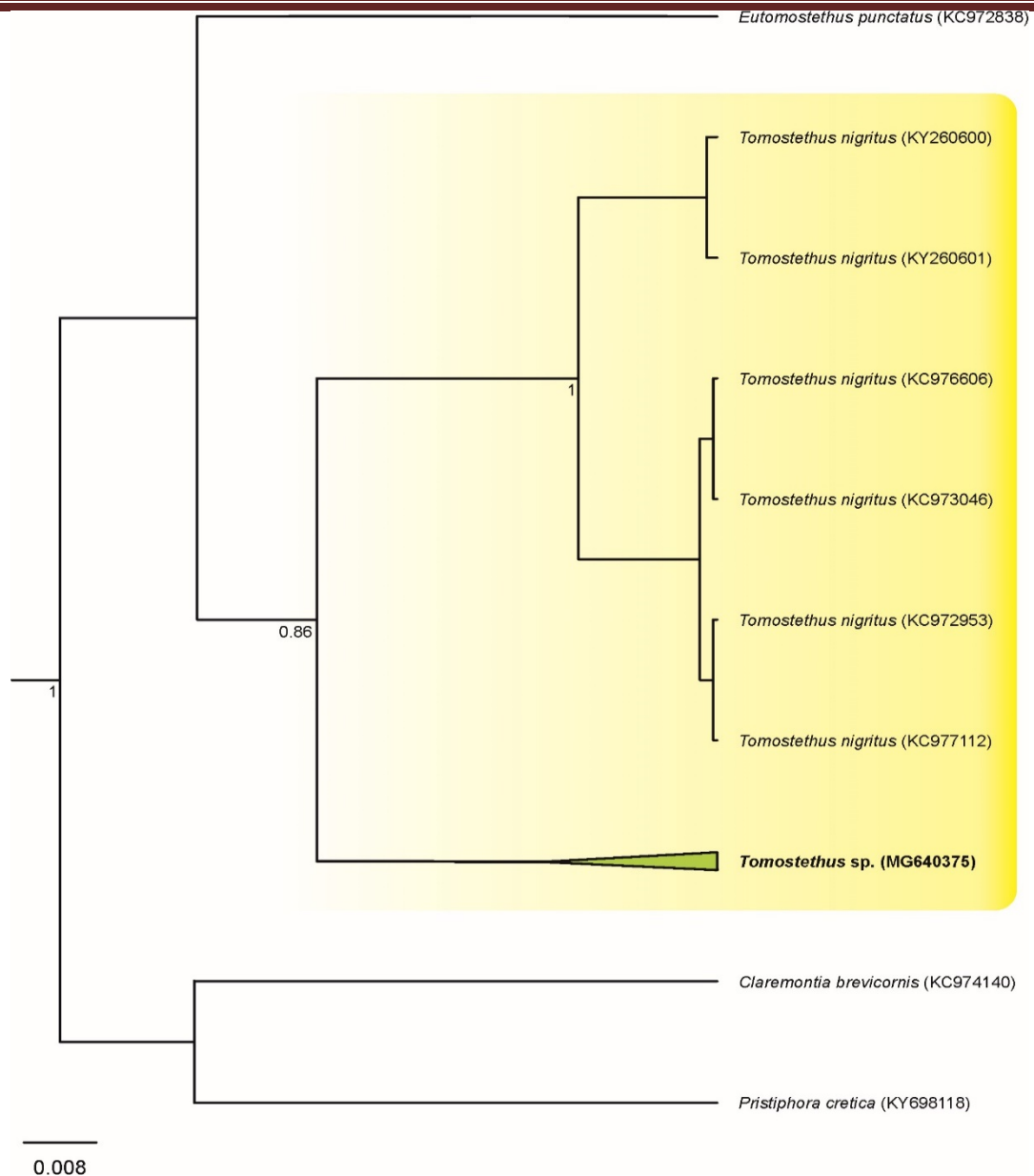
Table 2. The genetic variation among *COI* sequences of the present study and GenBank

نام علمی (شماره دسترسی بانک ژن) Scientific name (GB Accession)	<i>Pristiphora</i>	<i>Claremontia</i>	<i>Eutomostethus</i>	<i>T. nigratus</i>	<i>Tomostethus</i>
<i>Pristiphora</i> sp. (KY698118)	–				
<i>Claremontia</i> sp. (KC974140)	13	–			
<i>Eutomostethus</i> sp. (KC972838)	13	14	–		
<i>Tomostethus nigratus</i> <sup>o</sup>	11	11	9	–	
<i>Tomostethus</i> sp. (MG640375)*	12	15	14	9	–

\* توالی پژوهش حاضر،<sup>o</sup> شامل شش توالی بانک ژن با شماره‌های دسترسی 1-KY260600، KC972953، KC973046، KC976606 و KC977112

بدون تنوع درون گونه‌ای

\* A DNA sequence of present study, <sup>o</sup> including six GenBank sequences with accession numbers; KY260600, KC972953, KC973046, KC976606 and KC977112 without intraspecies variation



شکل ۲- درخت تبارشناسی استنباط شده از توالی‌های قسمتی از ژن *COI* پژوهش حاضر و توالی‌های بانک ژن، ایجاد شده با روش استنباط بیزی؛ کلاد شامل اعضای جنس *Tomostethus* با رنگ زرد در سمت راست درخت مشخص شده است. توالی پژوهش حاضر با فونت درشت درون کلاد *Tomostethus* قرار گرفته است. ترتیب همه توالی‌ها به صورت جنس، گونه و شماره دسترسی بانک ژن (درون پرانتز) قرار داده شده است. اعداد مربوط به مقدارهای صحت (آزمون احتمال ثانویه) در محل گره‌ها قرار گرفته است. طول شاخه‌ها متناسب با مقدار تغییرات تکاملی گونه‌های مورد پژوهش است. جنس‌های *Eutomostethus* و *Claremontia*، *Pristiphora* به عنوان گروه خارجی مد نظر بوده است.

Figure 2- The phylogenetic tree inference from partial *COI* sequences of the present study and GenBank sequences, constructed by Bayesian Inference method; the clade includes members of the genus *Tomostethus* is marked with yellow color on the right side of the tree. The sequence of the present study as bold font is located within the *Tomostethus* clade. All sequences are arranged as genus, species and accession number (in parenthesis). The numbers of related to credible values (posterior probability value) are located in the nodes. The length of branches is proportional to the evolutionary changes of the species studied. The genus *Pristiphora*, *Claremontia* and *Eutomostethus* has been considered as outgroups.



بحث

(Meshkova et al., 2017). بررسی‌های مولکولی حشره آفت مورد پژوهش، با نتایج بلاست بانک ژن نشان داد که گونه زنبور مورد پژوهش شباهت زیاد (۹۲ درصد) و قرابت بسیار نزدیکی با گونه *T. nigratus* دارد (درخت تبارشناسی-شکل ۲). با توجه به گزارشات مبنی بر زوال درختان زبان گنجشک طی دو دهه اخیر در شرق اروپا (Thomas, 2016)، و همچنین وجود آفات دیگر روی این درختان در رویشگاه‌های آن در ایران (Aramideh, 2016) از این رو وقوع مکرر این آفت هر ساله در فصل بهار می‌تواند در آینده به‌عنوان یک عامل تهدیدکننده برای این درختان باشد، زیرا تجربه دهه‌های اخیر به ما نشان داده است منطقه زاگرس در برابر عارضه‌هایی با منشأ آفات و بیماری‌ها نوپدید بسیار آسیب‌پذیرتر شده است. از طرفی هم انتشار جغرافیایی بیماری‌های نوپدید سریع‌تر و قدرتمندتر از دیگر نقاط است (Tavakoli et al., 2017). که به دلیل تغییرات اقلیمی و خشکسالی‌های متوالی در چند دهه اخیر اتفاق افتاده است. تشخیص سریع آفات و بیماری‌ها از مهم‌ترین اقدامات برای ممانعت از گسترش و شیوع آفات و بیماری‌ها در عرصه‌های جنگلی و مرتعی کشور است. نقش و مسئولیت سازمان‌های متولی، رصد، کشف، تهیه نقشه‌های کانون‌های طغیان، آسیب‌پذیری آفات و بیماری‌های دارای گزارش فوری و قابلیت اپیدمی شدن و مدیریت طغیان‌هاست. بنابراین داشتن نظام‌های مراقبت هشدار سریع یک ضرورت اجتناب‌ناپذیر است. از جنس *Tomostethus* تا به حال در غرب پالئارکتیک چهار گونه شناسایی و در مواردی هم حالت طغیانی آن‌ها گزارش شده است (Austara, 1991). این زنبور برگخوار زبان گنجشک برای اولین بار به‌عنوان یک آفت مهم روی درختان زبان گنجشک از ایران گزارش می‌شود. به‌منظور شناسایی دقیق گونه آن دست‌یابی به حشره بالغ ضروری است از این رو پیشنهاد می‌شود از

زنبور برگخوار درختان زبان گنجشک به‌عنوان آفت در منطقه زاگرس شمالی

بررسی‌های انجام شده در بررسی حاضر نشان داد حشره نوظهور زنبور برگخوار درختان زبان گنجشک به‌شکلی آرام در حاشیه رودخانه زاب در استان آذربایجان غربی در حال پراکنده شدن است. این نتیجه‌گیری با گزارش قبلی در این زمینه هم‌خوانی دارد (Tavakoli and Sepahvand, 2017). بررسی خصوصیات رفتاری و زیستی زنبور برگخوار زبان گنجشک نشان داد که این زنبور تک نسلی، دارای میزبان اختصاصی و نحوه تغذیه لاروهای مهاجم از درختان زبان گنجشک به‌صورتی است که درختان مورد حمله را عاری از برگ می‌کند. همچنین شیوه بالارفتن لاروها از درختان با جمعیت انبوه، به‌صورتی است که ابتدا از روی خاک به‌روی طوقه درختان و سپس از طریق تنه اصلی روی برگ‌ها مستقر می‌شوند. از خصوصیات درختان آلوده، وجود پوستک-های لاروی رو تنه درختان مورد حمله است. زمستان-گذرانی لاروها در خاک اطراف طوقه درختان در عمق ۱۰ تا ۲۰ سانتی‌متری درون پیله‌های گلی همراه با دیابوز درازمدت لارو سن آخر درون پیله انجام می‌شود. این یافته‌ها با نتایج پژوهش‌های دیگران در مورد خصوصیات رفتارشناسی و ریخت‌شناسی لاروهای زنبور برگخوار درختان زبان گنجشک *Tomostethus nigratus* در اروپا منطبق است؛ بررسی‌های انجام‌شده روی بیولوژی زنبور *T. nigratus* نشان داد که این حشره تک‌نسلی و میزبان اختصاصی آن فقط درختان زبان گنجشک است (Ciekie and Springate, 1999). همچنین لاروهای سن پنجم در اطراف طوقه درختان به‌درون خاک خزیده ضمن تشکیل پیله گلی به پیش سفیره تبدیل شده، تمام فصول تابستان و زمستان تا ابتدای فصل بهار را به‌صورت دیابوز طی می‌کنند

به نظر می‌رسد این آفت هنوز در بسیاری از مناطق جنگلی زاگرس شمالی مستقر نشده است اما با توجه به تهدید بالقوه این آفت برای بوم سازگان جنگل و به-خصوص به‌عنوان یکی از عوامل مهم در ایجاد پدیده زوال زبان‌گنجشک و عرصه وسیع فعالیت آن، اقدام بلافاصله و تلاش برای مدیریت کنترل جمعیت آن باید انجام شود. گزارش فعلی اولیه در مورد وجود و شیوع این آفت در زاگرس شمالی باید به‌صورت جدی در نظر گرفته و جزئیات جنبه‌های کنترل و نظارت شدید، برای مدیریت این آفت مهاجم برای متولیان امر حفاظت جنگل‌ها، در آینده مورد بررسی قرار داده شود.

#### تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از همه دوستان و همکاران عزیزی که ما را یاری کرده‌اند به‌خصوص آقایان مهندس فلاحی و مهندس رمضانپور از اداره منابع طبیعی پیرانشهر و آقای مصطفی بیرکانی از اداره محیط زیست پیرانشهر، همچنین از جناب آقای مهندس رحمان آزادی از مؤسسه جنگل‌ها و مراتع کشور برای کمک در شناسایی گونه زبان‌گنجشک کمال سپاسگزاری و تشکر را دارند.

#### References

- Alford, D. V., 2012. Pests of ornamental trees, shrubs and flowers: a colour handbook. CRC Press, San Diego USA, 480 p.
- Aramideh, Sh., 2016. Effect of active charcoal and starch on enhancement pathogenicity of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* against second instars larvae of ash tree pest *Nyssia graecarius* Staudinger (Lep.: Geometridae), *Forest Research and Development*, 2(2): 145-154 (In Persian).
- Austara, Ø., 1991. Severe outbreaks of the ash sawfly *Tomostethus nigrinus* F. (Hymenoptera: Tenthredinidae) on ornamental trees in Oslo, *Anzeiger für Schädlingskunde*, 64(4): 70-72.
- Boshier, D., J. Cordero, S. Harris, J. Pannell, S. Rendell, P. Savill, J. Stewart, N. Cundall, J. Hubert & S. Samuel, 2005. Ash species in

تله‌های چسبان بزرگ در اردیبهشت و اوایل خرداد ماه برای شکار حشرات بالغ روی درختان زبان‌گنجشک در پژوهش‌های آینده استفاده شود.

زنبورهای جنس *Tomostethus* و موقعیت تبارشناسی آن جنس *Tomostethus* در زیر خانواده Blennocampinae از خانواده Tenthredinidae قرار دارد. این زیر خانواده یک گروه بسیار متنوع زیستی و ریختی دارای تقریباً ۶۵۰ گونه در یکصد جنس است (Schmidt et al., 2017). در بررسی حاضر برخی از جنس‌های دیگر این زیر خانواده شامل *Eutomostethus* و *Claremontia* اختلاف ژنتیکی ۹ و ۱۱ درصد با جنس *Tomostethus* گونه *nigrinus* از نظر ژن *COI* نشان دادند. بر اساس توالی‌های قسمتی از ژن *COI* جنس‌های مختلف زنبور Blennocampinae کلاد مربوط به جنس *Tomostethus* به‌صورت تک‌نیایی در درخت تبارشناسی ایجاد شد. مجموع اختلاف یا فاصله ژنتیکی بین اعضای کلاد *T. nigrinus* بسیار ناچیز بود (صفر تا یک درصد) به‌طوری که می‌توان ادعا کرد نمونه‌های این گونه در مناطق مختلف دنیا از نظر این بخش از ژن *COI* تفاوتی ندارند.

- Europe: biological characteristics and practical guidelines for sustainable use. University of Oxford, Oxford UK, 128 p.
- Bricker, J. S. & J. C. Stutz, 2004. Phytoplasmas associated with ash decline, *Journal of Arboriculture*, 30(3): 193-199.
- Cieke, R. & N. D. Springate, 1999. Nest desertion by blackbirds following defoliation of an ash tree by sawfly larvae, *British Journal of Entomology and Natural History*, 12: 13-16.
- Dobrowolska, D., S. Hein, A. Oosterbaan, S. Wagner, J. Clark & J. P. Skovsgaard, 2011. A review of European ash (*Fraxinus excelsior* L.): implications for silviculture, *Forestry*, 84(2): 133-148.
- Doyle, J. J. & J. L. Doyle, 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue, *Phytochemical Bulletin*, 19: 11-15.

- Drummond, A. J., M. A. Suchard, D. Xie & A. Rambaut, 2012. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7., *Molecular Biology and Evolution*, 29(8): 1969-1973.
- Folmer, O., M. Black, W. Hoeh, R. Lutz & R. Vrijenhoek, 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates, *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3(5): 294-299.
- Gouy, M., S. Guindon & O. Gascuel, 2009. SeaView version 4: a multiplatform graphical user interface for sequence alignment and phylogenetic tree building, *Molecular Biology and Evolution*, 27(2): 221-224.
- Keßler, M., T. L. Cech, M. Brandstetter & T. Kirisits, 2012. Dieback of ash (*Fraxinus excelsior* and *Fraxinus angustifolia*) in eastern Austria: disease development on monitoring plots from 2007 to 2010, *Journal of Agricultural Extension and Rural Development*, 4(9): 223-226.
- Langford, G. S. & H. McConnell, 1935. Biology of *Tomostethus Multicinctus* (Roh.), a sawfly attacking ash, *Journal of Economic Entomology*, 28(1): 208-210.
- Matošević, D., B. Hrašovec & D. Diminić, 2003a. *Tomostethus nigrinus* F. (Hym., Tenthredinidae)-a serious pest on ornamental ash trees in Zagreb. In: Balder, H., K. H. Strauch & G. F. Backhaus (Eds.), Second International Symposium on plant health in urban horticulture, Berlin Germany, pp. 61-64.
- Matošević, D., B. Hrašovec & M. Pernek, 2003b. Spread and character of *Tomostethus nigrinus* F. outbreaks in Croatia during the last decade. In: McManus, M. L. & A. M. Liebhold (Eds.), Proceedings ecology, survey and management of forest insects, Kraków Poland, pp. 39-43.
- Meshkova, V., O. Kukina, O. Zinchenko & K. Davydenko, 2017. Three-year dynamics of common ash defoliation and crown condition in the focus of black sawfly *Tomostethus nigrinus* F. (Hymenoptera: Tenthredinidae), *Baltic Forestry*, 23(1): 303-308.
- Sabeti, H. A., 1994. Forests, trees, and shrubs of Iran. Yazd University, Yazd, Iran, 874 p. (In Persian).
- Schmidt, S., A. Taeger, J. Morinière, A. Liston, S. M. Blank, K. Kramp, M. Kraus, O. Schmidt, E. Heibo & M. Prous, 2017. Identification of sawflies and horntails (Hymenoptera, 'Symphyta') through DNA barcodes: successes and caveats, *Molecular Ecology Resources*, 17(4): 670-685.
- Tamura, K., G. Stecher, D. Peterson, A. Filipski & S. Kumar, 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0, *Molecular Biology and Evolution*, 30(12): 2725-2729.
- Tavakoli, M., S. Khaghaninia & M. Arzanlo, 2017. The oak decline in Zagros vegetation region is a threat for Arasbaran forests. In: 1<sup>st</sup> National Congress of Arasbaran Forests, Tabriz, Iran. (In Persian).
- Tavakoli, M. & K. Sepahvand, 2017. Report on the outbreak of pests and diseases in the forest and rangeland areas of northern and central Zagros during the spring of 2017 (Lorestan Iran, Agricultural and Natural Resources Research Center of Lorestan). p. 32.
- Thomas, P. A., 2016. Biological flora of the british isles: *Fraxinus excelsior*, *Journal of Ecology*, 104(4): 1158-1209.
- Williams, D. J., 2007. Biology of the spiny ash sawfly, *Eupareophora parca* (Hymenoptera: Tenthredinidae: Blennocampinae), in Edmonton, Alberta, *The Canadian Entomologist*, 139(2): 269-277.

## **The outbreak report of ash defoliator sawfly, *Tomostethus* sp. outbreak (Hymenoptera: Tenthredinidae) from Iran**

**M. Tavakoli<sup>1</sup>, A. Hosseini-Chegeni<sup>\*2</sup> and S. Khaghaninia<sup>3</sup>**

1- Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Lorestan Agricultural & Natural Resources Research Center, Khorramabad, I. R. Iran. (majid.tavakoli43@gmail.com)  
(majid.tavakoli43@gmail.com)

2- Department of Plant Protection (Pol-e Dokhtar Higher Education Center), College of Agriculture, University of Lorestan, Pol-e Dokhtar, I. R. Iran. (hosseinichegeni@gmail.com)

3- Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, I. R. Iran. (skhaghaninia@gmail.com)

Received: 13.01.2018

Accepted: 23.07.2018

### **Abstract**

Until now, many pests associated with the common ash and its outbreaks from Europe have been reported including the ash sawfly, *Tomostethus* (Blennocampinae). The present study was carried out in spring of 2017 following the severe outbreak of the ash sawfly in West Azarbayjan, north Zagros forests. The collected specimens were identified using molecular methods and sequencing of a partial *COI*. The Blast results showed a sequence of the present study is related to the genus *Tomostethus* and the species, *T. nigritus* with 92 percent similarity. The ash sawfly is dispersed as calmly on the margin of the Zab River in West Azarbayjan province. The current primary study on the existence and prevalence of this pest in northern Zagros should be considered seriously and details of the aspects of intense control and monitoring should be determined for the management of the invading pest in the attention of forestry conservation officials.

**Keywords:** *COI*, *Fraxinus angustifolia*, North Zagros, Outbreak, Sawfly.

---

\* Corresponding author

Tel: +989166695140