

کارایی انتقال ویروس برگ قاشقی سیبزمینی (PLRV) در تعدادی از ژنوتیپ های مهم اسکاتلندی شته سبز هلو (*Myzus persicae*)

جعفر نیکان^{۱*}، برایان فینتون^۲ و هیو بارکر^۳

چکیده

ظهور شته‌های مقاوم به حشره کش‌ها خطری بالقوه در گسترش ویروس‌هایی است که توسط آن‌ها منتقل می‌گردند. در این پژوهش کارایی انتقال PLRV در پنج ژنوتیپ اسکاتلندی *Myzus persicae* که برخی از آن‌ها مقاومت بالایی در برابر حشره کش‌ها دارند، ارزیابی گردید. آزمایش‌های انتقال ویروس با استفاده از برگ‌های بریده گیاه *Physalis floridana* آلوده به PLRV و گیاهچه‌های ۳-۲ برگی عاری از ویروس گیاه یاد شده به ترتیب برای کسب و تلقیح ویروس انجام شد. دوره‌های کسب و تلقیح هر یک سه روز و در شرایط نوری ۱۶ ساعت و دمای ۱۸ °C انجام شد. هر گیاهچه با یک شته حامل ویروس و ۲۴ گیاهچه توسط هر ژنوتیپ تلقیح گردید. سه هفته بعد تعداد گیاهان آلوده به PLRV در گیاهچه‌های تلقیح شده بر مبنای علائم یا نتایج آزمون ایذا مشخص گردید. این آزمایش‌ها پنج بار تکرار شد. علت اختلاف در انتقال PLRV توسط ژنوتیپ‌های مختلف نیز با مقایسه کارایی انتقال PLRV با ویروس نزدیک به آن BMYV توسط ژنوتیپ‌های A و J بررسی گردید. بین ژنوتیپ‌ها از نظر کارایی انتقال PLRV اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید. ژنوتیپ‌های A، B و C دارای بیشترین کارایی انتقال بودند. دو ژنوتیپ A و B که از مقاوم‌ترین ژنوتیپ‌ها به حشره کش‌ها نیز هستند به عنوان خطری بالقوه در گسترش PLRV معرفی می‌شوند. همچنین ژنوتیپ‌های A و J ویروس BMYV را با کارایی یکسان منتقل کردند. در صورتی که ژنوتیپ A ویروس PLRV را با کارایی بالاتری انتقال داد.

واژه‌های کلیدی: برگ قاشقی، سیبزمینی، کارایی انتقال، ژنوتیپ، PLRV

۱. بخش تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان همدان
۲ و ۳. به ترتیب دانشیار و استاد موسسه تحقیقات محصولات کشاورزی اسکاتلند، اینورگوری، داندی، اسکاتلند، بریتانیا

* نویسنده مسوول

مقدمه

ویروس برگ قاشقی سیب زمینی (*Potato leafroll virus, PLRV*) یکی از مهم ترین بیمارگرهای ویروسی سیبزمینی در دنیا است (بارکر، ۲۰۰۱). این ویروس در طبیعت توسط پیوند، اندام های رویشی تکثیری مانند غده های سیبزمینی و شته ها منتقل می گردد (هریسون، ۱۹۸۴). از ۱۲ گونه شته که به عنوان ناقل PLRV گزارش شده اند (کندی و همکاران، ۱۹۶۲). شته سبز هلو (*Myzus persicae* Sulzer) کارآبی بیش تری از دیگر گونه ها در انتقال PLRV در آزمایشگاه دارد (رابرت و ماری، ۱۹۷۰؛ رابرت، ۱۹۷۱؛ رابرت و لامیر، ۱۹۹۹؛ وودفورد و همکاران، ۲۰۰۲). PLRV توسط *M. persicae* به روش گردشی غیر تکثیری انتقال می یابد (اسکندری و همکاران، ۱۹۷۹). برای انتقال ویروس توسط ناقل، ذرات PLRV به هنگام تغذیه شته از بافت های آبکش به همراه شیره گیاهی به درون دستگاه گوارشی ناقل مکیده می شوند. ذرات ویروس از موانعی که در مسیر دستگاه گوارشی ناقل قرار دارند عبور کرده وارد حفره عمومی بدن می شوند. ذرات سپس به همراه همولنف در داخل بدن ناقل گردش نموده پس از عبور از غده فرعی بزاقی وارد کانال بزاقی می شوند و نهایتاً توسط بزاق به میزبان جدید منتقل می گردند (گیلیدو، ۱۹۹۹). ریز تزریق (Microinjection) ذرات خالص PLRV به داخل همولنف شته ناقل ثابت نموده است که غشا روده مانعی بوده که عبور ذرات ویروس را از روده به داخل حفره عمومی شته سبز هلو تنظیم می کند (روزه-جووان و همکاران، ۲۰۰۱). مانع اصلی تنظیم کننده انتقال ویروس هائی که به طریقه پایا منتقل می شوند غده فرعی بزاقی شته ناقل می باشد (گیلیدو و روشو، ۱۹۸۰؛ گیلیدو، ۱۹۸۲؛ گیلیدو و گری، ۱۹۹۳؛ پیفر و همکاران، ۱۹۹۷). ژنوتیپ های *M. persicae* در توانائی سازش بر روی میزبان (ون آمدن و همکاران، ۱۹۶۹؛ وبر، ۱۹۸۶)، مقاومت در برابر حشره کش ها (دوونشایر و همکاران، ۱۹۸۶)، قابلیت انتقال ویروس ها (رابرت، ۱۹۷۱؛ بوردین و همکاران، ۱۹۹۸؛ وودفورد و همکاران، ۱۹۹۹) متفاوت اند. فینتون و همکاران (۱۹۹۸) با روش انگشت

نگاری جداکننده های بین ژنی دی.ان.ای (ribosomal DNA intergenic spacer, rDNA IGS fingerprinting) ۲۷۶ نمونه شته سبز هلو را در اسکاتلند مطالعه کرده و ۸۰ ژنوتیپ متفاوت در بین آن ها پیدا کردند. نامبردگان گزارش نمودند که ۳۰٪ نمونه ها از یک ژنوتیپ بودند (ژنوتیپ J)، ۲۹ ژنوتیپ بیش از یکبار ولی ۴۹ ژنوتیپ تنها یکبار یافت شدند. تفاوت در کارایی انتقال ویروس در کلون های شته ها توسط جرک و همکاران (۱۹۸۰) مطالعه شده است. نامبردگان گزارش کردند که ۳۶ کلون شته نخود فرنگی (*Acyrtosiphon pisum*) ویروس موزاییک زرد لوبیا (*Bean yellow mosaic virus, BYMV*) را با کارایی های متفاوتی انتقال دادند. انتقال های موفق از ۳٪ تا ۳۷٪ در بین کلون ها متفاوت بود. هم چنین مشخص گردید که کارایی انتقال PLRV به وسیله شته های ناقل نه تنها به گونه شته بلکه به کلون های مختلف و سن آن ها بستگی دارد (رابرت و ماری، ۱۹۷۰؛ رابرت، ۱۹۷۱؛ آپرتی و ناگائچ، ۱۹۷۱؛ وودفورد و همکاران، ۲۰۰۲). سینگ و همکاران (۱۹۸۲) نشان دادند که کارآبی انتقال نژادهای مختلف PLRV به وسیله کلون های مختلف شته پنبه (*Aphis gossypii*) و شته سبز هلو از یک گیاه سیبزمینی به گیاه دیگر بین ۵٪ تا ۸۵٪ نوسان دارد. بوردین و همکاران (۱۹۹۸) با استفاده از ۱۵ کلون *M. persicae* (Mp) و دو کلون *Myzus nicotianae* (Mn) انتقال را که تحت عنوان Highly aphid transmissible (HAT) و Poorly aphid transmissible (PAT) نامیده می شدند را مورد ارزیابی قرار دادند. آن ها برای انتقال از بوته های آلوده به PLRV و عاری از ویروس گیاه عروسک پشت پرده (*Physalis floridana*) به ترتیب به عنوان منبع کسب و تلقیح ویروس استفاده کردند. به منظور تلقیح روی هر گیاهچه (یک برگ) سه شته حامل ویروس قرار داده شد. هم چنین نامبردگان دریافتند که از نظر انتقال جدایه HAT ویروس، تفاوتی بین کلون های مختلف شته وجود ندارد. در حالی که میزان انتقال جدایه PAT ویروس به وسیله کلون های

ناشی از غلظت ویروس در داخل برگ‌هایی که به‌عنوان منبع کسب ویروس مورد استفاده قرار گرفته بودند، وودفورد و همکاران (۱۹۹۹) اجازه دادند که کلون‌های LCSA و Mp1S به مدت ۲۴ ساعت از محلول سوکروز ۲۰٪ حاوی $20 \mu\text{g ml}^{-1}$ یا $80 \mu\text{g ml}^{-1}$ از جدایه‌های PLRV-C یا PLRV-V تغذیه نمایند. تمایز بین جدایه‌های HAT و PAT تنها زمانی بروز کرد که ویروس در غلظت $20 \mu\text{g ml}^{-1}$ مورد استفاده قرار گرفت. در این غلظت کلون Mp1S جدایه PLRV-C را انتقال داد ولی جدایه PLRV-V را منتقل نمود در حالی که کلون LCSA هر دو جدایه را با کارایی مساوی منتقل نمود. نامبردگان در تائید نتایج بوردین و همکاران (۱۹۹۸) بیان نمودند که توانایی انتقال PLRV به‌وسیله شته‌های ناقل نه تنها به ساختار پوشش پروتئینی ویروس بلکه به عوامل بیولوژیکی که توسط شته ناقل در جریان انتقال دخالت داده می‌شود نیز بستگی دارد. در بین عوامل بیولوژیکی شرکت کننده در جریان انتقال رفتارهای تغذیه‌ای به‌عنوان عاملی مهم در میزان انتقال PLRV توسط کلون‌های مختلف شته پیشنهاد شده است (وودفورد و همکاران، ۱۹۹۹).

در این مقاله نتایج مطالعات انجام شده بر روی کارایی انتقال PLRV در پنج ژنوتیپ مهم اسکاتلندی *M. persicae* گزارش می‌شود. هدف از این مطالعه آن بود که مشخص شود ظهور ژنوتیپ‌های مقاوم به حشره-کش‌ها در بین جمعیت‌های *M. persicae* تا چه حد خطر گسترش PLRV را افزایش می‌دهند.

مواد و روش‌ها

شته‌ها و جدایه‌های ویروس

ژنوتیپ‌های شته مورد بررسی عبارت بودند از ژنوتیپ‌های اسکاتلندی A، B، C، I و J شته سبز هلو (*M. persicae*) (برایان فینتون، نتایج چاپ نشده) و ژنوتیپ ۴۰۱۰ از گونه *M. antirrhinii* (وودفورد و همکاران، ۱۹۹۹). برای این بررسی‌ها ژنوتیپ‌های C، I و J به دلیل آن که به ترتیب ۲۲٪، ۲۰٪ و ۲۰٪ از جمعیت *M. persicae* را در اسکاتلند تشکیل می‌دادند انتخاب شدند و ژنوتیپ‌های A و B به این دلیل مورد بررسی

مختلف بین ۷۰٪ تا ۷۰٪ متغیر بود. میزان پائین انتقال جدایه PAT توسط برخی کلون‌های شته مورد بررسی نتیجه ظرفیت ذاتی پائین کلون‌ها در انتقال ویروس نیست بلکه احتمالاً مربوط به خصوصیات ساختمانی ذرات ویروس بوده است زیرا همه کلون‌ها جدایه HAT ویروس را با کارایی تقریباً یکسان انتقال دادند.

دامنه تغییرات انتقال جدایه PAT (صفر درصد تا ۷۰٪) توسط کلون‌های مختلف نشان دهنده آن است که خصوصیات ساختمانی ذرات ویروس تنها عاملی نیست که در کارایی انتقال جدایه‌های ویروس توسط شته ناقل تعیین کننده می‌باشد. نتایج به دست آمده پیشنهاد کننده فرضیه‌ای است که جریان انتقال ویروس و اختصاصی بودن آن به رابطه نزدیک بین کلون شته و جدایه ویروس بستگی دارد. وودفورد و همکاران (۱۹۹۹) با استفاده از یک جدایه HAT ویروس برگ قاشقی سیب‌زمینی (PLRV-C) و یک جدایه PAT این ویروس (PLRV-V) و کلون‌های متفاوت شته‌های *M. persicae* و *M. nicotianae* توانستند اختلاف در توانایی

انتقال ویروس را در بین گونه‌ها و کلون‌های مختلف شته‌های مورد آزمایش نشان دهند. این پژوهش‌گران از برگ‌های بریده آلوده به PLRV و گیاهچه‌های عاری از ویروس عروسک پشت پرده به ترتیب به عنوان منبع کسب و تلقیح ویروس استفاده کردند. دوره‌های کسب و تلقیح ویروس نیز به ترتیب یک و سه تا پنج روز بود. در این بررسی هر گیاهچه (دو تا سه برگه) توسط سه شته حامل ویروس تلقیح شد و از نظر انتقال ویروس بین کلون‌های مورد بررسی در تکرارهای مختلف آزمایش تفاوت‌های ثابتی مشاهده گردید. یک کلون قرمز (LCSA) از *M. nicotianae* (که به‌وسیله انگشت-نگاری دی.ان.ای از *M. persicae* قابل تمایز نبود) و همه کلون‌های *M. antirrhinii* جدایه PLRV-C را به میزان ۴۰٪ یا بیشتر منتقل کردند، در حالی که فقط یکی از کلون‌های *M. persicae* به نام Mp4 قدرت انتقال ویروس در این سطح را داشت و Mp1S (یکی دیگر از کلون‌های این گونه) به‌طور شگفت‌انگیزی ناقل بسیار ضعیفی بود. به‌منظور حذف منابع احتمالی تغییرات

سالم توسط هر ژنوتیپ شته تلقیح گردید و پس از اتمام دوره تلقیح شته‌ها به وسیله تدخین نیکوتین کشته شدند. سه هفته بعد از آزمایش تعداد گیاهان آلوده در گیاهچه-های تلقیح شده بر مبنای علایم (شکل ۱) یا نتایج آزمون الایزا تعیین گردید. ارزیابی آماری داده‌های مربوط به آزمایش‌های انتقال PLRV (درصد انتقال) با استفاده از مدل خطی عمومی توزیع دو جمله‌ای و رابطه لگاریتمی (logit link function) (مک کولاگ و نلدر، ۱۹۸۹) انجام شد.



شکل ۱. علائم آلودگی در گیاه عروسک پشت پرده آلوده به PLRV شامل کوتولگی شدید و کلروز بین رگبرگی می‌باشد. گیاه آلوده (تصویر سمت راست) در مقایسه با گیاه سالم (سمت چپ)

مقایسه کارایی انتقال PLRV و BMYV توسط

ژنوتیپ‌های A و J

هدف از انجام این آزمایش آن بود که مشخص شود آیا صرفاً تفاوت در رفتارهای تغذیه‌ای ژنوتیپ‌های مورد بررسی باعث اختلاف در کارایی انتقال PLRV توسط این ژنوتیپ‌ها است (عاملی که وودفورد و همکاران، ۱۹۹۹ پیشنهاد کردند) یا عوامل دیگری در این خصوص دخالت دارند. برای این منظور *Beet mild yellowing virus* (BMYV) که ویروسی نزدیک به PLRV است انتخاب و آزمایش‌هایی طراحی شد تا مشخص شود که آیا ژنوتیپ‌های A و J با همان کارایی که PLRV را انتقال می‌دهند BMYV را نیز منتقل می‌کنند؟ دلیل انتخاب ژنوتیپ‌های A و J در این آزمایش‌ها آن بود که این دو ژنوتیپ به ترتیب کارآمد-ترین و ضعیف‌ترین ناقلین PLRV در آزمایش‌های قبلی

قرار گرفتند که مقاوم‌ترین ژنوتیپ‌های *M. persicae* در برابر حشره کش‌ها در اسکاتلند می‌باشند (برایان فینتون، نتایج چاپ نشده). به علاوه آن که در یک آزمایش زیست‌سنجی ژنوتیپ A در مقابل حشره‌کش لامبدا سیپهالوترین (Lambda-cyhalothrin) بسیار مقاوم بود و پس از آن ژنوتیپ B نیز مقاومت بالایی داشت (بلندانام و همکاران، ۲۰۰۴). در طول انجام آزمایش‌ها کشت‌های شته‌ها بر روی برگ‌های بریده کلزا (*Brassica napus*) در داخل قفس‌های بسته مجزا نگهداری شدند. برای این کار و به منظور به دست آوردن یک کشت یکنواخت و هم‌سن، تعدادی شته بالغ بی‌بال از هر ژنوتیپ به روی برگ‌های کلزا منتقل شده و پس از ۲۴ ساعت وقتی که تعدادی پوره به وجود آمد شته‌های مادر را حذف کرده و به پوره‌ها اجازه داده شد رشد کنند.

ویروس برگ قاشقی سیب زمینی مورد استفاده در آزمایش‌های انتقال ویروس جدایه PLRV-C (وود فورد و همکاران، ۱۹۹۹) و جدایه BMYV و آنتی‌بادی‌های تک‌سانه‌ای و چند سانهای مورد استفاده علیه ویروس مذکور اهدایی دکتر مارک استیونس از ایستگاه تحقیقاتی برومز برن (Broom's Barn Research Station, Higham, Bury St. Edmunds, Suffolk, UK) بودند.

مطالعه کارایی انتقال PLRV توسط ژنوتیپ‌های مورد

بررسی

آزمایش‌های انتقال ویروس با قراردادن شته‌های تغذیه شده با گیاهان آلوده به PLRV، بر روی گیاهان سالم انجام شد. در این آزمایش‌ها از برگ‌های بریده گیاه عروسک پشت پرده (*Physalis floridana*) آلوده به PLRV و گیاهچه‌های ۲-۳ برگی عاری از ویروس همین گیاه به ترتیب به عنوان منبع کسب ویروس و تلقیح آن استفاده شد. زمان‌های کسب (Acquisition access period, AAP) و تلقیح (Inoculation access period, IAP) هر یک سه روز بود که در شرایط نوری ۱۶ ساعت و دمای ۱۸°C انجام گردید. عمل تلقیح با قرار دادن یک شته حامل ویروس در روی هر گیاهچه سالم انجام شد. ۲۴ گیاهچه

انتقال ویروس بودند. دو سری آزمایش مجزا با استفاده از میزبان‌های گیاهی مختلف ترتیب داده شد. در آزمایش‌های سری اول هر یک از دو ویروس از میزبان‌های مرجح خود کسب و به گیاهچه‌های عاری از ویروس همان میزبان‌ها تلقیح شدند. ویروس برگ قاشقی سیب-زمینی از گیاهان آلوده عروسک پشت پرده کسب و به گیاهچه‌های عاری از ویروس این گیاه منتقل شد. برای BMYV گیاهان آلوده کیسه کشیسی (*Capsella bursa-pastoris*) به‌عنوان منبع کسب ویروس و گیاهچه‌های عاری از ویروس این گیاه برای تلقیح ویروس انتخاب شدند. در آزمایش‌های سری دوم PLRV از گیاه آلوده عروسک پشت پرده و BMYV از گیاه آلوده کیسه کشیسی کسب شد ولی هر دو ویروس به گیاهچه‌های عاری از ویروس توتون (*Nicotiana benthamiana*) مایه زنی شدند. در هر دو سری آزمایش زمان‌های کسب و تلقیح ویروس هر یک به‌مدت سه روز در شرایط نوری ۱۶ ساعت و دمای ۱۸ °C انجام شد. در این آزمایش‌ها با قرار دادن یک شته حامل ویروس در روی هر گیاهچه عمل تلقیح ویروس انجام شد و ۲۴ گیاهچه توسط هر ژنوتیپ تلقیح گردید. پس از اتمام دوره تلقیح شته‌ها به‌وسیله تدخین نیکوتین کشته شدند. سه هفته بعد تعداد گیاهان آلوده در گیاهچه‌های تلقیح شده بر مبنای نتایج آزمون الیزا تعیین گردید.

آزمون الیزا

(Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) برای آزمون الیزا از روش ساندویچ سه طرفه الیزا (Triple antibody sandwich- ELISA, TAS-ELISA) (تورانس، ۱۹۹۲) استفاده شد. آنتی ویروس چند سانه‌ای مورد استفاده PLRV-G (تامادا و هریسون، ۱۹۸۰) بود که به نسبت یک میکروگرم در میلی‌لیتر بافر پوششی مصرف شد. آنتی‌ویروس تک سانه‌ای مورد استفاده

جدول ۱: تجزیه آماری انتقال PLRV توسط ژنوتیپ‌های شته مورد بررسی

منابع تغییرات	درجه آزادی	f
آزمایش	۴	۱/۳۲ ns
ژنوتیپ	۵	۶/۱۴*

ns: اختلاف معنی‌دار وجود ندارد. * p<.001

نتایج

نتایج آزمایش‌های انتقال PLRV توسط ژنوتیپ‌های مختلف شته‌های مورد بررسی

تجزیه آماری میزان (درصد) انتقال PLRV توسط ژنوتیپ‌ها در آزمایش‌های مختلف نشان داد که از این نظر بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی اختلاف معنی‌دار وجود دارد (جدول ۱).

در بین ژنوتیپ‌های مختلف شته‌های مورد بررسی ژنوتیپ ۴۰۱۰ از گونه *M. antirrhinii* از نظر آماری میزان انتقال بالاتری از ژنوتیپ‌های I، C، I و J از گونه *M. persicae* داشت. میزان انتقال توسط ژنوتیپ‌های A یا B گونه *M. persicae* به‌طور معنی‌داری بیش از میزان انتقال توسط ژنوتیپ‌های I و J بود. هم‌چنین ژنوتیپ C ویروس را به‌طور معنی‌داری بیشتر از ژنوتیپ J منتقل نمود (جدول ۲).

جدول ۲: میزان انتقال PLRV توسط ژنوتیپ های مهم اسکاتلندی *M. persicae* در آزمایش های

انتقال ویروس

ژنوتیپ شته	درصد انتقال در هر آزمایش*					میانگین درصد انتقال
	شماره آزمایش					
	۱	۲	۳	۴	۵	
Ma4010	NT [†]	NT	۸۷/۵	۶۶/۶	NT	۷۷ a
A	۷۹/۱	۸۳/۳	۵۴/۱	۵۸/۳	۵۰	۶۵ ab
B	۵۸/۳	۵۴/۱	۳۳/۳	۷۸/۵	۳۴/۷	۵۱/۸ ab
I	۳۰	۳۵	۷۰/۸	۵۴/۱	۶۵	۵۰/۹ bc
J	۲۹/۱	۴۱/۶	۵۰	۵	۱۵	۲۸/۱ cd
	۴/۱	۸/۳	۳۷/۵	۱۶/۶	۳۳/۳	۲۰ d

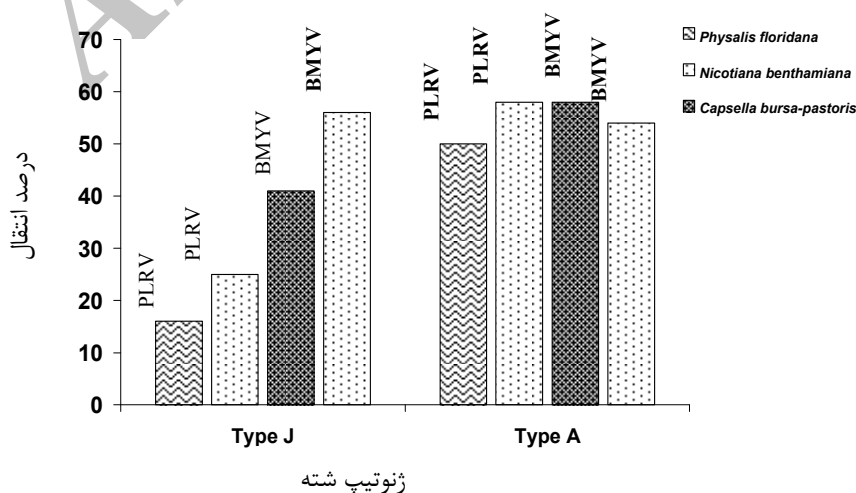
* درصدهایی که با حروف مختلف مشخص شده اند از نظر آماری متفاوت می باشند. [†] تست نشده (p = 0.002)

انتقال ویروس BMYV اختلاف چشم گیری بین دو ژنوتیپ مذکور وجود ندارد. در حالی که ژنوتیپ A ویروس PLRV را با کارایی بسیار بالاتری نسبت به ژنوتیپ J منتقل نمود (شکل ۲). این در حالی است که در زمان استفاده از *N. benthamiana* به عنوان میزبان مشترک دو ویروس، میزان انتقال ویروس BMYV توسط ژنوتیپ های J و A به ترتیب ۵۶٪ و ۵۴٪ بود. هم چنین میزان انتقال PLRV توسط ژنوتیپ های J و A به ترتیب ۲۵٪ و ۵۸٪ بود. همین روند وقتی که از گیاه کیسه کشیش به عنوان منبع کسب و تلقیح ویروس برای BMYV و از گیاه عروسک پشت پرده برای PLRV استفاده شد، نیز مشاهده گردید (شکل ۲).

در بین ژنوتیپ های *M. persicae* وضعیت ترین و کارآمدترین ژنوتیپ ها در انتقال PLRV به ترتیب ژنوتیپ های J و A بودند. میانگین انتقال برای ژنوتیپ های J و A به ترتیب ۲۰٪ و ۶۵٪ بود (جدول ۲). به هر حال میزان انتقال ویروس توسط ژنوتیپ A و ژنوتیپ های B یا C اختلاف معنی دار نداشت. هم چنین بین میزان انتقال ویروس توسط ژنوتیپ های I و J نیز اختلاف معنی دار دیده نشد.

نتایج میزان کارایی انتقال ویروس های PLRV و BMYV

نتایج آزمایش های انتقال PLRV و BMYV توسط ژنوتیپ های A و J بیان گر آن است که در میزان



شکل ۲: مقایسه میزان انتقال ویروس های PLRV و BMYV توسط ژنوتیپ های اسکاتلندی A و J گونه

Myzus persicae

بحث

مقاومت شته‌ها در برابر حشره کش‌ها خطر گسترش ویروس‌هایی را که منتقل می‌کنند افزایش می‌دهد. در این پژوهش کارایی انتقال PLRV در پنج ژنوتیپ اسکاتلندی *Myzus persica* که برخی از آن‌ها مقاومت بالایی در برابر حشره کش‌ها دارند، بررسی گردید.

ارزیابی آماری میزان انتقال PLRV توسط ژنوتیپ‌های شته‌های مورد بررسی نشان داد که بین ژنوتیپ‌ها از این نظر اختلاف معنی‌دار وجود دارد (جدول ۱). چنین تفاوت‌هایی بین کلون‌های مختلف شته توسط بوردین و همکاران (۱۹۹۸) و وودفورد و همکاران (۱۹۹۹) نیز گزارش شده است. نتایج این آزمایش‌ها با یافته‌های وودفورد و همکاران (۱۹۹۹) که ژنوتیپ J (با نام قبلی Mp1S) را ناقلی ضعیف برای PLRV یافتند هم‌خوانی دارد. کلون ۴۰۱۰ گونه *M. antirrhinii* با میانگین انتقال ۰.۷۷٪ در این آزمایش‌ها کارآمدترین ژنوتیپ بود که با یافته‌های وودفورد و همکاران (۱۹۹۹) مبنی بر این‌که کلون‌های گونه *M. antirrhini* ناقلینی کارآمد هستند مطابقت دارد. وودفورد و همکاران (۱۹۹۹) برای تلقیح هر گیاهچه با PLRV از سه عدد شته استفاده کردند در حالی‌که در این آزمایش‌ها برای تلقیح ویروس به هر گیاهچه از یک شته استفاده شد. مدت زمان کسب ویروس در آزمایش‌های وودفورد و همکاران (۱۹۹۹) کوتاه‌تر (۲۴ ساعت) بود، زیرا آن‌ها معتقد بودند تفاوت کارایی در انتقال PLRV توسط کلون‌های مختلف زمانی مشهودتر است که شته‌ها مدت زمان کم‌تری از منبع کسب ویروس تغذیه نمایند. به جای تلقیح هر گیاهچه با سه شته که به مدت ۲۴ ساعت روی منبع ویروس تغذیه کرده‌اند، در این آزمایش‌ها از یک شته که به مدت ۷۲ ساعت از منبع ویروس تغذیه کرده بود استفاده گردید. چنین به‌نظر می‌رسد که استفاده از تعداد شته کمتر به اندازه استفاده از زمان تلقیح کوتاه‌تر که توسط وودفورد و همکاران (۱۹۹۹) به منظور تلقیح به‌کار رفته است در نشان دادن تفاوت کارایی انتقال PLRV در بین ژنوتیپ‌ها موثر بوده است. کارآمدترین (ژنوتیپ) و ضعیف‌ترین (ژنوتیپ)

J) ژنوتیپ‌ها (جدول ۲) به ترتیب مقاوم‌ترین و حساس‌-ترین ژنوتیپ‌ها در مقابل حشره‌کش‌ها می‌باشند (بلنداندام و همکاران، ۲۰۰۴؛ برایان فینتون، نتایج چاپ نشده). در طی فصل رشد در نتیجه کاربرد مکرر حشره-کش‌ها، جمعیت ژنوتیپ‌های مقاوم در مقایسه با ژنوتیپ-های حساس افزایش می‌یابد. این بدان معناست که وجود ژنوتیپی مانند A که هم مقاوم به حشره‌کش‌هاست و هم در انتقال PLRV بسیار کارآمد است می‌تواند باعث گسترش این ویروس در مزارع سیب‌زمینی گردد.

اگر چه در پایان فصل زراعی، به‌خصوص در نواحی تولید بذر، جمعیت ژنوتیپ‌های مقاوم به حشره-کش نسبت به ژنوتیپ‌های حساس افزایش می‌یابد ولی این غلبه جمعیت ادامه پیدا نمی‌کند. این امر به احتمال زیاد به دلیل آن است که در زمستان ژنوتیپ‌های مقاوم به حشره‌کش‌ها نسبت به ژنوتیپ‌های حساس متحمل تلفات بیشتری می‌شوند. فوستر و همکاران (۱۹۹۶) طی آزمایش‌های مزرعه‌ای رابطه‌ای منفی بین توانایی بقا شته‌ها در برابر سرمای زمستان و میزان مقاومت ناشی از افزایش سطح آنزیم E4 گزارش نموده‌اند. به هر حال تغییرات آب و هوایی مانند افزایش میانگین جهانی دما ممکن است اثرات انتخابی بقا زمستانه در جمعیت *M. persicae* را تغییر دهد. بنابر این در درازمدت تغییر آب و هوا ممکن است مشکلات ناشی از پیدایش ژنوتیپ‌های مقاوم به حشره‌کش‌ها را تشدید نماید. این امر ضرورت دیدبانی مداوم ژنوتیپ‌های موجود در جمعیت‌های *M. persicae* را در رابطه با واکنش آن‌ها نسبت به حشره‌کش‌ها و توانایی آن‌ها در انتقال ویروس-های گیاهی مشخص می‌کند.

کارایی ضعیف ژنوتیپ J (میانگین انتقال ۰.۲۰٪) در انتقال جدایه HAT (PLRV-C) در این آزمایش‌ها (نتایج مشابهی توسط وود فورد و همکاران، ۱۹۹۹ یافت گردید) بیان‌گر آن است که تمایز بین جدایه‌های HAT (مانند PLRV-C) و PAT (مانند PLRV-V) همیشه صادق نیست. زیرا جدایه HAT که توسط ژنوتیپ J با کارایی ضعیف منتقل گردید، به‌وسیله ژنوتیپ A به‌طور موثری (میانگین انتقال ۰.۶۵٪) انتقال یافت. تمایز بین جدایه‌های HAT و PAT ویروس PLRV با توجه به

همکاران (۱۹۹۹) پیشنهاد شده است)، انتظار این است که ژنوتیپ های A و J با همان کارایی که PLRV را منتقل کردند ویروس BMVYV را نیز انتقال دهند. به هر حال نتایج آزمایش ها در این بررسی بیانگر آن است که ژنوتیپ های A و J ویروس BMVYV را با کارایی مشابه انتقال می دهند در حالی که ژنوتیپ A ویروس PLRV را با کارایی بسیار بالاتری نسبت به ژنوتیپ J انتقال داد. این نتایج نشان می دهد که اختلاف در رفتارهای تغذیه ای تنها عامل ایجاد تفاوت در کارایی انتقال PLRV توسط ژنوتیپ های مختلف نیست. تامادا و همکاران (۱۹۸۴) نشان دادند که کارایی ضعیف انتقال یک جدایه بریتانیایی ویروس PLRV (PLRV-15) به وسیله *M. persicae* نمی تواند به سادگی به غلظت ناکافی ویروس در گیاه منبع، میزان جذب ناکافی ویروس توسط شته ناقل و یا بی ثباتی ویروس در داخل بدن ناقل ربط داده شود. نامبردگان پیشنهاد کردند که کارایی ضعیف انتقال این جدایه نشان دهنده خواص ذاتی ذرات ویروس می باشد. ضمناً عامل های دیگر مانند میزان برهم کنش بین پروتئین های ویروس و گیرنده های بدن شته ناقل که در جریان انتقال لوتئوویروس ها (Luteoviruses) دخالت دارند (گیلدو، ۱۹۸۷؛ وان دن هیوول و همکاران، ۱۹۹۴) در میزان کارایی انتقال آن ها توسط ژنوتیپ های مختلف نقش دارند. در مجموع نتایج آزمایش ها در این پژوهش نشان دهنده آن است که ژنوتیپ شته ناقل می تواند انتقال لوتئوویروس ها را تحت تاثیر قرار دهد. غشا روده (روزه جووان و همکاران، ۲۰۰۱)، غشا پایه و پلاسماهای غده فرعی بزاقی (پیرو و همکاران، ۱۹۹۷) به عنوان مکان هایی در بدن شته ناقل که می توانند در این مورد دخیل باشند پیشنهاد می گردند.

در آزمایش های مقایسه کارایی انتقال دو ویروس PLRV و BMVYV توسط ژنوتیپ های A و J، گیاه *N. benthamiana* به عنوان گیاه آزمایشی مشترک برای هر دو ویروس به کار رفت، در حالی که منبع کسب برای دو ویروس مورد مقایسه متفاوت بود به نحوی که PLRV از *P. floridana* و BMVYV از *C. bursa-pastoris* کسب گردید. این امر به نوبه خود

نتایج آزمایش های صورت گرفت که در آن ها از کلون شته استاندارد SCRI^۱ (کلون Mp1S که اکنون ژنوتیپ J نامیده می شود) استفاده گردید (ماسالسکی و هریسون، ۱۹۸۷). اکنون شواهدی وجود دارد که اصطلاحات HAT ('highly' aphid transmissible) و PAT ('poorly' aphid transmissible) به منظور تمایز بین جدایه های PLRV همیشه صادق نیست زیرا یک جدایه ویروس ممکن است با یک ژنوتیپ خاص شته با کارایی بالایی انتقال یابد ولی با ژنوتیپ دیگری دارای کارایی انتقال پائین باشد. این تناقضات نشان دهنده آن است که بایستی به دنبال جایگزین های مناسب تری برای این اصطلاحات بود. به عنوان مثال تمایز بین جدایه های ویروس (از نظر HAT یا PAT بودن) در هر منطقه می تواند بر مبنای میانگین کارایی انتقالشان توسط ژنوتیپ های غالب شته ناقل در آن منطقه صورت گیرد تا تنها بر مبنای انتقال توسط یک ژنوتیپ خاص. همچنین با توجه به این که جمعیت *M. persicae* در هر منطقه جغرافیایی ترکیبی از ژنوتیپ های مختلف با نسبت های متفاوت است، اختصاص یک ضریب تصحیح برای هر ژنوتیپ که نشان دهنده فراوانی آن ژنوتیپ در منطقه است، هنگامی که بررسی انتقال و گسترش PLRV توسط شته های ناقل آن مد نظر باشد می تواند مفید باشد. این کار منجر به داده هایی خواهد شد که با آنچه که در طبیعت اتفاق می افتد همخوانی بیشتری دارد. به علاوه معرفی یک گروه بندی جدید با دامنه انتقال محدودتر می تواند به تمایز جدایه های ویروس از نظر میزان انتقالشان با شته ناقل بیشتر کمک کند. به عنوان مثال جدایه های از ویروس با کارایی انتقال تا ۲۰٪ جدایه PAT، جدایه های با کارایی انتقال بین ۲۱-۴۰٪ جدایه MAT (moderately aphid transmissible) و جدایه های با کارایی انتقال بیشتر از ۴۱٪ HAT تلقی گردند.

اگر اختلاف در کارایی انتقال PLRV توسط ژنوتیپ های مختلف شته تنها نتیجه تفاوت در رفتارهای تغذیه ای آن ها باشد (عاملی که توسط وودفورد و

1. Scottish Crop Research Institute

سوی دیگر حامل هر سه نوع مکانیسم شناخته شده مقاومت در برابر حشره کش‌ها می‌باشند به نحوی که در یک آزمایش زیست‌سنجی، ژنوتیپ A در برابر حشره کش لامبدا سیهالوترین کاملاً ایمن بوده و پس از آن ژنوتیپ B بسیار مقاوم بود (بلندانام و همکاران، ۲۰۰۴). توجه به نکات فوق مبین این مطلب است که وجود ژنوتیپ-هائی با خصوصیات مذکور (قدرت تکثیر زیاد، مقاومت بالا در برابر حشره کش‌ها و کارایی زیاد در انتقال PLRV) چنانچه به صورت ژنوتیپ غالب درآیند خطری بالقوه در گسترش این ویروس محسوب می‌شوند. این امر به نوبه خود تاکیدی است بر ضرورت دیده‌بانی ژنوتیپ‌های شته سبز هلو از نظر مقاومت به حشره کش‌ها و کارایی انتقال ویروس. چنین ناقلین کارایی برای PLRV ممکن است ویروس‌های دیگر را نیز با کارایی بالا انتقال دهند.

سپاسگزاری

نگارندگان از سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی وزارت جهاد کشاورزی جمهوری اسلامی ایران که اعتبار لازم برای این پژوهش را تأمین نموده و از موسسه تحقیقات محصولات کشاورزی اسکاتلند (Scottish Crop Research Institute) که امکانات لازم برای انجام این تحقیق را فراهم آورد تقدیر می‌نمایند.

می‌تواند کسب و انتقال این ویروس‌ها را تحت تاثیر قرار داده باشد. پیدا کردن یک گیاه میزبان مشترک که بتواند به عنوان منبع کسب و تلقیح برای هر دو ویروس به کار رود می‌تواند اختلافات ناشی از کاربرد گیاهان متفاوت به عنوان منبع کسب ویروس را کاهش دهد. به علاوه مقایسه کارایی انتقال PLRV با یک ویروس نزدیک‌تر به آن مانند ویروس زردی غربی چغندر قند *Beet western yellows virus (BWYV)* (۱۹۹۶) اساس نتایج پژوهش‌های اسمیت و همکاران (۱۹۹۶) قرابت بیشتری با PLRV دارد، منجر به نتایج قابل اطمینان‌تری در خصوص عوامل دخیل در انتقال این گونه ویروس‌ها توسط شته‌های ناقل خواهد شد. نامبردگان گزارش کردند که BWYV نسبت به BMVYV قرابت بیشتری با PLRV دارد زیرا ۳۸٪ از آنتی‌بادی‌های تک سانه‌ای تولید شده علیه BWYV با PLRV نیز واکنش نشان دادند در حالیکه ۴٪ از چنین آنتی‌بادی‌هائی که علیه BMVYV تولید شدند با PLRV واکنش دادند. به نظر می‌رسد تعیین دقیق عوامل موثر در انتقال این گونه ویروس‌ها توسط شته‌های ناقل، تحقیقات بیشتری را می‌طلبد.

در یک بررسی که بر روی شاخص‌های زیستی دخیل در افزایش جمعیت ژنوتیپ‌های مورد بررسی صورت گرفت، ژنوتیپ‌های A و B جزو مولدترین ژنوتیپ‌های *M. persicae* در اسکاتلند تعیین گردیدند (نگارندگان، نتایج چاپ نشده). ژنوتیپ‌های A و B از

منابع

- Barker, H. 2001. Potato leafroll virus. p804. In: Malloy, O. C. and Murry, T. D. (eds), Encyclopedia of plant pathology. Vol 2, Eds.
- Bolandandam, J., Barker, H., and Fenton, B. 2004. Differences in potato leafroll transmitting ability of individual genotypes of Scottish *Myzus persicae* with different susceptibilities to Lambda-cyhalothrin insecticide. Proceedings of the 15th International Plant Protection Congress, Beijing, China, May 11-16, p201.
- Bourdin, D., Rouzé-Jouan, J., Tanguy, S., and Robert, Y. 1998. Variation among clones of *Myzus persicae* and *Myzus nicotianae* in the transmission of a poorly and a highly aphid-transmissible isolate of potato leafroll luteovirus (PLRV). *Plant Pathology* 47: 794-800.
- Devonshire, A. L., Moores, G. D., and French-Constanaţ R. H. 1986. Detection of insecticide resistance by immunological estimation of carboxylesterase activity in *Myzus persicae* (Sulzer) and cross reaction of the antiserum with *Phorodon humuli* (Schrank) (Hemiptera: Aphididae). *Bulletin of Entomological Research* 76: 97-107.
- Eskandari, F., Sylvester, E. S., and Richardson, J. 1979. Evidence of lack of propagation of potato leafroll virus in its aphid vector, *Myzus persicae*. *Phytopathology* 69: 45-47.
- Fenton, B., Woodford, J. A. T., and Malloch, G. M. 1998. Analysis of clonal diversity of the peach-potato aphid, *Myzus persicae* (Sulzer), in Scotland, UK and evidence for the existence of a predominant clone. *Molecular Ecology* 7: 1475-1487.
- Foster, S. P., Harrington, R., Devonshire, A. L., Denholm, I., Devine, G. J., and Kenward, N. G. 1996. Comparative survival of insecticide-susceptible and resistant peach-potato aphids, *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae), in low temperature field trials. *Bulletin of Entomological Research* 86: 17-27.
- Gildow, F. E. 1982. Coat-vesicle transport of luteoviruses through salivary glands of *Myzus persicae*. *Phytopathology* 72: 1289-1296.
- Gildow, F. E. 1987. Virus-membrane interactions involved in circulative transmission of luteoviruses by aphids. In *Current Topics in Vector research*, pp. 93-120. Ed. K F Harris. New York, USA: Springer Verlag.
- Gildow, F. E. 1999. Luteovirus transmission mechanisms regulating vector specificity. In *The Luteoviridae*, pp. 88-111. Eds Smith, H G and Barker, H. Wallingford, Oxon, UK: CABI publications
- Gildow, F. E., and Gray, S. M. 1993. The aphid salivary gland basal lamina is a selective barrier associated with vector-specific transmission of Barley yellow dwarf luteovirus. *Phytopathology* 83: 1293-1302.
- Gildow, F. E., and Rochow, W. F. 1980. Role of accessory glands in aphid transmission of Barley yellow dwarf virus. *Virology* 104: 97-108.
- Harrison, B. D. 1984. Potato leafroll virus. Description of plant viruses, no 291. Surrey, UK: The commonwealth Mycological Institute and Association of Applied Biologists.
- Jurík, M., Mucha, V., and Valenta, V. 1980. Interspecies variability in transmission efficiency of stylet-borne viruses by the pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*). *Acta Virologica* 24: 351-357.
- Kennedy, J. S., Day, M. F., and Eastop, V. F. 1962. A conspectus of aphids as vectors of plant viruses. pp. 34-35. London: Commonwealth Institute of Entomology.
- Massalski, P. R., and Harrison, B. D. 1987. Properties of monoclonal antibodies to potato leafroll luteovirus and their use to distinguish virus isolates differing in aphid transmissibility. *Journal of General Virology* 68: 1813-1821.
- McCullagh, P., and Nelder, J. A. 1989. Generalised linear models. Second edition, London: Chapman & Hall 511p.
- Peiffer, M. L., Gildow, F. E., and Gray, S. M. 1997. Two distinct mechanisms regulate transmission efficiency and specificity at the aphid salivary gland. *Journal of General Virology* 78: 495-503.
- Robert, Y. 1971. Epidémiologie de l' enroutement de la pomme de terre: capacité vectrice de stades et de formes des pucerons *Aulacorthum solani* Kltb. *Macrosiphum euphorbiae* Thomas. et *Myzus persicae* Sulz. *Potato Research* 14: 130-139.

- Robert, Y., and Lemaire, O. 1999. Epidemiology and control strategies: Epidemiology of potato leafroll disease. In *The Luteoviridae*, pp. 195-225. Eds H G Smith and H Barker. Wallingford, Oxon, UK: CABI Publications.
- Robert, Y., and Maury, Y. 1970. Capacités vectrices comparées de plusieurs souches de *Myzus persicae* Sulz., *Aulacorthum solani* Klth. et *Macrosiphum euphorbiae* Thomas. Dans l' étude de la transmission de l' enrroulement de la pomme de terre. *Potato Research* 13: 199-209.
- Rouzé-Jouan, J., Terradot, L., Pasquer, F., Tanguy, S., and Ducray-Bourdin, D. G. 2001. The passage of Potato leafroll virus through *Myzus persicae* gut membrane regulates transmission efficiency. *Journal of General Virology* 82: 17-23.
- Singh, M. N., Khurana, S. M. P., Nagaich, B. B., and Agrawal, H. O. 1982. Strains of potato leafroll virus and their transmission by aphid clones. *Journal of The Indian Potato Association* 9: 121-127.
- Smith, H. G., Barker, I., Brewer, G., Stevens, M. and Hallsworth, P. B. 1996. Production and evaluation of monoclonal antibodies for the detection of beet mild yellowing luteovirus and related strains. *European Journal of Plant Pathology* 102: 163-169.
- Tamada, T., and Harrison, B. D. 1980. Factors affecting the detection of potato leafroll virus in potato foliage by enzyme-linked immunosorbent assay. *Annals of Applied Biology* 95: 209-219.
- Tamada, T., Harrison, B. D., and Roberts, I. M. 1984. Variation among British isolates of potato leafroll virus. *Annals of Applied Biology* 104: 107-116.
- Torrance, L. 1992. Serological methods to detect plant viruses: production and use of monoclonal antibodies. In *Techniques for the rapid detection of plant pathogens*, pp. 7-37. Eds J M Duncan and L Torrance. Oxford, UK: Blackwell publications.
- Upreti, C. G., and Nagaich, B. B. 1971. Variations in the ability of *Myzus persicae* Sulz. to transmit potato viruses. *Phytopathologische Zeitschrift* 71: 163-168.
- Van den Heuvel, J. F. J. M., Verbeek, M., and Van der Willk, F. 1994. Endosymbiotic bacteria associated with circulative transmission of Potato leafroll virus by *Myzus persicae*. *Journal of General Virology* 75: 2559-2565.
- Van Emden, H. F., Eastop, V. F., Hughes, R. D., and Way, M. J. 1969. The ecology of *M. persicae*. *Entomology* 14: 197-120.
- Weber, G. 1968. Ecological genetics of host plant exploitation in the green peach aphid, *M. persicae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 40: 161-168.
- Woodford, J. A. T., Fenton, B., and Barker, H. 2002. Managing aphid-transmitted viruses in Scottish seed potato crops. *Proceedings of Crop Protection in Northern Britain*, Dundee, UK, February 2002. pp. 231-236.
- Woodford, J. A. T., Fenton, B., and Mayo, M. A. 1999. Variation among aphid vectors of Potato leafroll virus. *Annual Report of the Scottish Crop Research Institute for 1998/1999*. pp. 146-149. Dundee, Scottish Crop Research Institute.

The *Potato leafroll virus* transmission Efficiency of Some Major Genotypes of Scottish *Myzus persicae*

Nikan^{1*}, J. Fenton², B. And Barker³, H.

Abstract

In this study the PLRV transmission efficiency of five major genotypes of Scottish *M. persicae* were analysed. The genotypes denoted as types A, B, C, J, and I. In virus transmission experiments detached leaves of PLRV-infected *Physalis floridana* and virus-free seedlings (2-3 leaf) of the same plant were used as virus source and test plant, respectively. Both acquisition and inoculation access periods were 3 days at 18°C with a 16 h photoperiod. One viruliferous aphid per seedling was used for inoculation and 24 seedlings for each genotype were inoculated. Three weeks after inoculation and based on symptoms or ELISA tests, the numbers of infected plants in each set of inoculated seedlings were determined. The transmission experiment was repeated five times. To reveal the factors underlying the differences in PLRV-transmitting abilities of the genotypes, transmission efficiency of PLRV and closely related virus, *Beet mild yellowing virus* (BMV), by genotypes A and J were compared. Significant differences in PLRV transmission efficiency of the genotypes were observed. Genotypes A, B and C transmitted PLRV to more test plants. The comparison of the PLRV and the BMV transmission efficiency showed that genotypes A and J transmitted BMV almost with the same efficiency whereas genotype A transmitted PLRV more efficiently than did genotype J. These results suggest that such differences are likely to be caused by small variations within the aphid's receptors that recognise PLRV particles and assist their circulation and stability within the aphid's body. It has been shown that the genotypes A and B also carry all three known insecticide-resistance mechanisms and therefore can potentially increase the spread of PLRV.

Keywords: PLRV, *Myzus persicae*, Transmission, Genotype

Archive SID

1. Assistant Professor, Plant Pests and Diseases Research Dept. Hamedan Agricultural and Natural Resources Research Centre, Hamedan

2 And 3. Associate Professor and Professor, Scottish Crop Research Institute, Invergowrie, Dundee DD2 5DA, Scotland, UK

*. Corresponding Author