نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۳، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۸، ص. ۴۴۰-۴۳۱

Journal of Plant Protection
Vol. 33, No.4, Winter 2019, P. 431-440

ارزیابی لاین‌های پنبه تراریخته در برابر آفات بالپولکدار مهم پنبه در شرایط مزرعه‌ای

سیدالیاس مرتضوی[1*]- مرتضی عرب‌سلمانی[2]- حامد حسن زاده خانکهدانی[3]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۶/۲۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۰۷

چکیده

به‌منظور ارزیابی میزان مقاومت سه لاین تراریخته پنبه در برابر آفات بالپولکدار در شرایط مزرعه‌ای و نیز بررسی امکان استفاده از این ارقام در برنامه‌های آزادسازی رقم، پژوهشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در هشت تکرار در استان هرمزگان، میناب اجرا شد. مواد گیاهی شامل دو لاین تراریخته حاوی رویداد تراریزشی MON531 موسوم به لاین‌های A و B، یک رقم تراریخته تجاری حاوی تراژن *cry*IAc به نام CRI به همراه رقم غیرتراریخته ورامین به عنوان شاهد منفی بودند. در این آزمایش مجموعه‌ای از صفات شامل عملکرد، تعداد غوزه، درصد آلودگی غوزه، درصد آلودگی برچه و درصد آسیب به غوزه اندازه‌گیری شده و در نهایت شاخص خسارت نیز مورد محاسبه قرار گرفت. نتایج آنالیزهای ارزیابی‌های وضعیت مقاومت نشان داد که لاین‌های تراریخته مورد آزمایش از نظر صفات مورد بررسی تفاوت معنی‌دار دارند. هم‌چنین، دو لاین تراریخته A و B ضمن داشتن بالاترین عملکرد، دارای کمترین آلودگی و کمترین خسارت از آفات بالپولکدار بوده و رقم غیرتراریخته ورامین، بیشترین خسارت و آلودگی را نشان داد. هم‌چنین، رقم تراریخته CRI از نظر تمامی خصوصیات بین دو گروه تراریخته و غیرتراریخته قرار گرفت. در مجموع نتایج این پژوهش نشان داد که در بین لاین‌های تراریخته مورد مطالعه، دو لاین تراریخته A و B دارای مکانیسم مقاومت بالاتری در برابر آفات بالپولکدار هستند و از این رو، امکان استفاده از آنها در برنامه‌های آزادسازی رقم وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: پنبه، شاخص خسارت آفت، لاین تراریخته، مقاومت، *Gossypium hirsutum*

مقدمه

خسارت وسیع آفات پنبه به ویژه آفات بالپولکدار و هزینه بسیار بالای مدیریت این آفات با روش‌های شیمیایی و اثرات جانبی زیست‌محیطی آن، و نیز مشکلات مربوط به استفاده از آفت‌کش‌های زیستی در کنترل آفات، دانشمندان و متخصصین را در اوایل دهه ۹۰ قرن گذشته به این نتیجه رساند که قابلیت‌های مهندسی ژنتیک به عنوان یک فناوری نوظهور می‌تواند در مدیریت آفات پنبه نیز مورد بهره‌برداری قرار گیرد (۹ و ۱۴). از این رو، گیاه پنبه از اولین گیاهان تراریخته‌ای بوده است که با دریافت ژن‌های پروتئین کریستالی موسوم به ژن‌های *cry*، وارد آزمون‌ها و ارزیابی‌های مزرعه‌ای شده و پس از گذراندن انواع آزمایش‌های مزرعه‌ای که تعداد آنها برای هر رویداد تراریزشی به صدها مورد می‌رسید، موفق به اخذ مجوزهای مربوطه شده و در سال ۱۹۹۶ تجاری‌سازی شد (۹).

رهاسازی و تجاری‌سازی یک لاین از محصول تراریخته‌ای مثل پنبه مستلزم گذراندن مراحل آزمایشی مختلفی است. این فرایند، ابتدا مستلزم اثبات کارایی تراژن در ایجاد صفت مورد انتظار و در مرحله دوم، مستلزم آن است که آن لاین تراریخته از نظر سایر صفات زراعی به ویژه عملکرد و نیز خصوصیات کمّی و کیفی دیگر وضعیت مناسب و قابل قبولی داشته باشد (۱۰). ارزیابی اولیه کارایی تراژن به صورت معمول در آزمایشگاه و گلخانه انجام می‌گیرد و شامل آنالیزهای مولکولی مختلف و زیست‌سنجی است. سپس این لاین‌های تراریخته وارد آزمایش‌های مزرعه‌ای می‌شوند که از آزمایش‌های مقیاس کوچک تا آزمایش‌های بزرگی در حد هزار هکتاری را در بر می‌گیرد (۶ و ۷). به همین ترتیب، پنبه تراریخته مقاوم به آفات بالپولکدار نیز پیش از رهاسازی و تجاری‌سازی در ایران باید در مزرعه مورد ارزیابی‌های دقیق قرار داده شود.

آفات بالپولکدار متعددی هستند که به گیاه پنبه حمله کرده و خسارت زیادی به آن وارد می‌کنند. کرم غوزه پنبه (*Helicoverpa*

۱- استادیار بخش مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
(*- نویسنده مسئول: (Email: mortazavi@abrii.ac.ir)
۲- استادیار بخش تحقیقات پنبه، مرکز تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی استان تهران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ورامین، ایران
۳- محقق بخش تحقیقات زراعی و باغی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی هرمزگان، ایران

DOI: 10.22067/jpp.v33i4.74929

www.SID.ir

Archive of SID

armigera Hübner)، کرم‌های خاردار (*Earias vittella* Fabricius و *Earias insulana* Boisduval)، کرم سرخ پنبه (*Pectinophora gossypiella* Saunders)، کرم برگخوار پنبه (*Spodoptera litura* F.)، و کرم‌نیم‌وجبی پنبه (*Anomis flava* Fabricius) از جمله مهمترین این آفاتند (۱). در ایران برخی از این آفات از جمله کرم سرخ و کرم نیم‌وجبی فعلاً جزو آفات قرنطینه‌ای هستند و اگرچه گزارش‌هایی مبنی بر مشاهده آنها وجود دارد، ولی با اعمال مقررات قرنطینه‌ای خسارت قابل مشاهده‌ای در نواحی پنبه‌کاری ندارند. با این وجود، خسارت سایر آفات بالپولکدار قابل توجه است (۲).

ترکیب جمعیت آفات مختلف بالپولکدار در مناطق مختلف متفاوت است و علاوه بر این، این آفات دارای بیوتیپ‌های مختلفی نیز هستند. معنای عبارت فوق آن است که در جمعیت طبیعی آفات تنوع ژنتیکی وجود دارد که امکان تغذیه محدود بر روی لاین‌های تراریخته حاوی پروتئین کریستالی را به آنها می‌دهد. از این رو، ارزیابی لاین‌های تراریخته در مناطق مختلفی انجام می‌شود تا میزان مقاومت واقعی آنها در مزرعه در برابر این آفات متنوع، بیشتر و بهتر ارزیابی شود.

در ایران، تحقیقات بسیاری در خصوص تولید ارقام تراریخته صورت گرفته است و لاین‌های مختلفی از پنبه حاوی تراژن پروتئین کریستالی تولید شده است. پس از ارزیابی اولیه تعدادی لاین تراریخته پنبه در منطقه ورامین در استان تهران (مرتضوی و همکاران، داده‌های در حال انتشار)، چند لاین تراریخته که بیشترین مقاومت را در برابر آفات بالپولکدار نشان دادند، مورد انتخاب قرار گرفتند. ارزیابی دقیق‌تر این لاین‌ها از نظر این مقاومت و نیز بررسی پتانسیل عملکرد این لاین‌ها، هدف مطالعه حاضر بوده است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد استفاده در این پژوهش، دو لاین تراریخته پنبه با ژن *cry*IAc حاوی رویداد MON531 که به روش تلاقی برگشتی تولید شده موسوم به لاین‌های A و B، یک لاین تراریخته تجاری حاوی تراژن *cry*IAc با منشاء کشور چین با کد CRI و رقم غیرتراریخته ورامین به عنوان شاهد بود. لاین‌های تراریخته A و B پیش از این در یک آزمون مقدماتی برای ارزیابی مقاومت به آفات بالپولکدار، مقاومت نسبی از خود نشان داده بود. آزمایش در فصل زمستان ۱۳۹۴ و بهار ۱۳۹۵ در مزارع ایستگاه تحقیقات گیاهان گرمسیری میناب واقع در استان هرمزگان انجام شد. با توجه به سابقه کشت پنبه در سنوات دور در منطقه آزمایش، از این رقم غیرتراریخته ورامین به عنوان شاهد منفی استفاده شد.

آزمایش در قالب یک طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۸ تکرار اجرا شد. هر کرت دارای ۸ ردیف ۸ متری بود که فاصله ردیف‌ها از هم، ۸۰ سانتی‌متر و فاصله بوته‌ها روی ردیف‌ها، ۳۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شده بود. زمان کاشت با توجه به سابقه کشت در منطقه و اجتناب از دمای صفر فیزیولوژیک پنبه در آن منطقه، ۱۲ دی‌ماه در نظر گرفته شد. بلافاصله پس از کاشت که به صورت دستی انجام شد، آبیاری به صورت تحت فشار و با استفاده از قرار دادن نوار در فاروها صورت پذیرفت و در تمام طول فصل رشد به همین ترتیب ادامه یافت.

مراقبت‌های زراعی دیگر شامل کودهی و وجین مطابق روش معمول در پنبه بر روی مزرعه آزمایشی اعمال می‌شد. این اقدامات شامل کودهی با استفاد از کود دامی یک بار و فسفات آمونیوم دو بار در طول فصل و مجموعاً به میزان ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار انجام شد. کوددهی اولیه در هنگام ۵ تا ۶ برگی شدن بوته‌ها و بار دوم یک ماه بعد هنگامی که ارتفاع بوته‌ها به حدود ۴۰ سانتی‌متر رسیده بود صورت گرفت.

با توجه به شرایط آب و هوایی منطقه و استعداد رشد علف‌های هرز، وجین در تمام طول فصل به صورت مستمر و هفتگی انجام شد تا بوته‌های پنبه به استقرار کامل برسند و با پوشاندن زمین و سایه‌اندازی، مانع رشد علف‌های هرز شوند. از آن پس، وجین به صورت ماهانه انجام می‌شد.

از آنجا که بیشتر آفات بالپولکدار پنبه نظیر کرم غوزه و کرم خاردار، پلی‌فاژ بوده و به طور معمول بر روی سایر گیاهان زراعی منطقه زندگی می‌کنند، برای ارزیابی وضعیت مقاومت لاین‌ها و ارقام مورد آزمایش در برابر آفات بالپولکدار، از آلودگی طبیعی منطقه به این آفات شامل کرم غوزه (*Helicoverpa armigera* Hübner)، کرم‌های خاردار (*Earias vittella* Fabricius و *Earias insulana* Boisduval) و کرم برگخوار (*Spodoptera litura* F.) در ابتدای بهار استفاده شد. هم‌چنین، جهت حفظ افزایش جمعیت آفات، هیچ گونه سمپاشی یا روش مبارزه مکانیکی دیگری بر علیه آفات انجام نشد.

نمونه‌برداری‌ها شامل شمارش تعداد غوزه در بوته، تعداد غوزه آلوده در بوته، تعداد برچه آلوده در بوته، تعداد آسیب به غوزه در بوته، و محاسبه شاخص خسارت بر اساس فرمول کوک و همکاران (۲۰۰۶) بر اساس شمارش در ۶ بوته در دو زمان برداشت یکی در نیمه دوم اردیبهشت ماه و بار دوم در نیمه دوم خردادماه انجام شد.

شاخص آلودگی بر اساس رابطه زیر مورد محاسبه قرار گرفت:

$$D_i=\sum[(x_i.f_i)/\sum f_i].(100/n)=[(x_1.0)+(x_2.1)+...+(x_6.5)]/\sum f_i$$

در این فرمول، D_i، شاخص آلودگی، x_i، تعداد برچه آلوده در یک غوزه که می تواند از صفر تا ۵ برچه را به خود بگیرد، f_i، تعداد غوزه‌های دارای x_i برچه آلوده، i، غوزه iام شمارش شده و n تعداد

www.SID.ir

Archive of SID

برچه در هر غوزه هستند که معمولاً ۵ برچه در یک غوزه وجود دارد.

در نهایت، عملکرد هر کرت نیز با جمع‌آوری وش از مساحت چهار متر مربع در هر کرت مورد محاسبه قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از مدل آماری مربوطه و نرم‌افزار SAS (۱۲) مورد آنالیز قرار گرفت.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده‌های حاصل از آزمایش تکمیلی بررسی مقاومت لاین‌های تراریخته برتر نسبت به آفات بالپولکدار در جدول ۱ ارائه شده است. این جدول نشان می‌دهد که لاین‌های مورد مطالعه از نظر کلیه صفات مورد بررسی به جز درصد آسیب به غوزه اختلاف بسیار معنی‌دار از خود نشان می‌دهند.

مقایسه میانگین برای عملکرد لاین‌ها در برداشت (چین) اول، برداشت دوم و عملکرد کل در شکل ۱ آورده شده است. این شکل نشان می‌دهد که عملکرد لاین تراریخته A در هر سه برداشت از سایر ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بیشتر است، به طوری که لاین A در برداشت اول، برداشت دوم و عملکرد کل به ترتیب برابر ۱۵۶۰، ۳۴۸۱ و ۵۰۴۱ کیلوگرم بر هکتار عملکرد وش از خود نشان داد. این ارقام برای لاین تراریخته B به ترتیب برابر ۱۰۵۶، ۳۴۱۰ و ۴۴۶۶ کیلوگرم بر هکتار بود. نکته بارز در این میان آن است که این دو لاین در برداشت اول دارای تفاوت معنی‌دار بودند ولی تفاوت آنها در عملکرد کل غیرمعنی‌دار شناخته شد. این نتیجه می‌تواند به معنای اندکی دیررس‌تر بودن لاین B اشاره داشته باشد. با این وجود، در این مطالعه امکان بررسی دقیق زمان رسیدگی لاین‌های مورد مطالعه وجود نداشت.

شکل ۱ هم‌چنین نشان می‌دهد که عملکرد وش لاین CRI در رتبه سوم قرار گرفت و در برداشت اول، دوم و عملکرد کل به ترتیب به نتایج ۶۷۰، ۲۷۱۲ و ۳۳۸۲ کیلوگرم بر هکتار دست یافت. عملکرد این لاین که به عنوان یک رقم تراریخته تجاری در کشور چین مورد استفاده است، از عملکرد رقم غیرتراریخته ورامین (در برداشت اول، دوم و عملکرد کل به ترتیب مقادیر ۶۰۳، ۲۴۶۹ و ۳۰۷۱ کیلوگرم بر هکتار) بیشتر بود. واضح است که رقم ورامین به عنوان یک رقم غیرتراریخته شناخته‌شده، کمترین عملکرد را از خود نشان داد. بر مبنای این نتایج مقایسه عملکرد می‌توان نتیجه گرفت که پتانسیل عملکرد لاین‌های تراریخته A و B مناسب است. به عبارت دیگر این پتانسیل نه تنها از عملکرد رقم رایج ورامین بیشتر است، بلکه از توانایی عملکردی رقم تراریخته شاهد مثبت CRI نیز بالاتر است. با این وجود، مقاومت این لاین‌ها در برابر آفات بالپولکدار به ترتیبی که در پی خواهد آمد نیز در این افزایش عملکرد نقش داشته است.

یکی از اجزای مهم عملکرد، صفت تعداد غوزه در بوته است. مقایسه میانگین لاین‌ها برای این صفت در هر دو زمان برداشت در شکل ۲ خلاصه شده است. این شکل نشان می‌دهد که لاین‌های تراریخته A و B در هر دو برداشت بیشترین تعداد غوزه در بوته را داشته‌اند. میانگین تعداد غوزه لاین A در بوته در برداشت اول و دوم به ترتیب برابر ۳۰ و ۵۷ غوزه و برای لاین B به ترتیب ۳۱ و ۵۸ غوزه بود. لاین تراریخته CRI با ۲۶ غوزه در بوته در برداشت اول اختلاف معنی‌داری با این دو لاین نداشت ولی اختلاف آن با رقم ورامین که با ۲۴ غوزه کمترین تعداد غوزه در بوته را به خود اختصاص داد، نیز معنی‌دار اعلام نشد. با این وجود، این لاین با ۴۱ غوزه در بوته در برداشت دوم اختلاف معنی‌داری با لاین‌های A و B از خود نشان داد و با رقم غیرتراریخته ورامین با ۳۸ غوزه در بوته در یک گروه قرار گرفت.

اهمیت صفت تعداد غوزه در بوته در این آزمایش فقط به خاطر اینکه یکی از اجزای اصلی عملکرد است، نیست؛ بلکه اهمیت آن بیشتر از جهت اثر آن بر ارزیابی مقاومت لاین‌ها در برابر آفات بالپولکدار است. به صورت نظری، هر چه تعداد غوزه بیشتری بر روی یک بوته وجود داشته باشد، امکان در معرض آفت قرار گرفتن آن غوزه‌ها بیشتر است؛ به عبارت دیگر در شرایط توزیع یکنواخت آفت در مزرعه آزمایشی با احتمال بیشتری مورد هجوم آفات قرار خواهد گرفت. در چنین شرایطی اگر صرفاً تعداد غوزه‌های آلوده مد نظر قرار داده شود، این امکان وجود دارد که لاین دارای غوزه بیشتر به اشتباه به عنوان لاین حساس به آفات در نظر گرفته شود؛ زیرا تعداد غوزه‌های آلوده بیشتری خواهد داشت (۵ و ۱۴). برای حل این مشکل، تعداد غوزه‌های آلوده بر روی یک بوته را به عنوان نسبتی از غوزه‌های موجود بر روی آن بوته در نظر می‌گیرند و در آنالیزها مورد استفاده قرار می‌دهند. علاوه‌بر این، از آنجا که تولید و بقای غنچه پیش‌نیاز تولید غوزه در مراحل رشدی بعدی است، و نیز با توجه به بسیار حساس بودن این اندام در برابر تغذیه آفات بالپولکدار، برتری لاین‌های تراریخته از نظر صفت تعداد غوزه در بوته به معنای اثربخشی این مقاومت در بقای غنچه و گل و در نهایت تشکیل غوزه و باردهی نیز هست.

مقایسه‌های میانگین درصد آلودگی غوزه در لاین‌های در دست مطالعه که به صورت جداگانه در دو برداشت مجزا انجام شده بودند، در شکل ۳ خلاصه‌سازی شده و نشان داده شده‌اند. این شکل نشان می‌دهد که طبق انتظار، رقم غیرتراریخته ورامین در دو برداشت اول و دوم به ترتیب با ۱۳ و ۳۲ درصد آلودگی غوزه در شرایط انجام آزمایش بیشترین مقدار آلودگی را دارا بود. رقم تراریخته CIR از این نظر در رتبه دوم قرار گرفت و در دو برداشت مجزا به ترتیب ۶ و ۱۶ درصد آلودگی نشان داد. در همین شرایط لاین‌های تراریخته B و A به ترتیب با ۱/۳ و ۱/۵ درصد آلودگی در برداشت اول و ۱/۶ و ۱/۹ درصد آلودگی در برداشت دوم، کمترین میزان آلودگی را دارا بوده و در رتبه آخر قرار گرفتند. همگام با این نتایج، آزمایش‌های اجرا شده در

www.SID.ir

Archive of SID

استرالیا، چین و هند نشان داد که پنبه تراریختـه قـادر اسـت جمعیـت آفات بالپولکدار شامل کرم غوزه، کرم خاردار و کرم صورتی را به طـور موثری کنترل کند (۸، ۱۰ و ۱۳).

همانگونه که پیش از این عنوان شد، صفت درصد آلـودگی غـوزه مهمترین شاخص ارزیابی مقاومت لاین‌ها نسبت بـه آفـات بالپولکـدار است. با این وجود، گاهی مقاومت برخی از لایـن‌هـای تراریختـه بـه گونه‌ای است که میزان پروتئین کریستالی تولید شده و تجمع‌یافتـه در اندام‌ها به حدی نیست که از آلوده شده غوزه به آفت بـه طـور کامـل جلوگیری کند. در این شرایط لارو آفت موفق به ورود به غوزه می‌شود ولی همان مقدار پروتئین کریستالی موجود در غوزه‌ها باعث جلوگیری از نشو و نمای سریع لارو می‌شود. در برخی از شرایط نیـز، لارو آفـت به تازگی وارد غوزه شده و هنوز مراحل رشـدی خـود را طـی نکـرده است. نتیجه این وضعیت‌ها در زمان ثبت صفات، مشاهده آلودگی فقط قسمت کوچکی از غوزه و سالم مانـدن سـایر قسـمت‌هـای آن غـوزه خواهد بود. برای ارزیابی و کمّی‌سازی این وضـعیت از صـفت درصـد آلودگی برچه استفاده می‌شود.

جدول ۱- جدول تجزیه واریانس برای عملکرد و داده‌های تبدیل‌شده صفات مرتبط با مقاومت به آفات بالپولکدار پنبه در آزمایش تکمیلی بررسی مقاومت لاین‌های تراریخته پنبه نسبت به آفات

Table 1- Analysis of variance for yield and transformed data of traits related to resistance against Lepidoptera pests

منابع تغییر Source of variation	میانگین مربعات Mean squares			CV (%)	R^2 (%)
	تکرار Replication	رقم Cultivar	خطا Error		
عملکرد برداشت اول Yield 1 (1st harvest)	92567 ns	1546408 **	96251	32	72
عملکرد برداشت دوم Yield 2 (2nd Harvest)	1390573 **	1645389 **	268440	17	74
عملکرد کل Total Yield	162350 *	6784331 **	490809	18	75
تعداد غوزه در بوته (۱) Number of boll per plant (1)	2.47 ns	6.13 **	1.37	23	13
درصد آلودگی غوزه (۱) Boll contamination % (1)	0.0096 ns	0.65 **	0.0161	12	41
درصد آلودگی برچه (۱) Locule contamination % (1)	0.0042 ns	0.0974 **	0.0053	16	25
درصد آسیب به غوزه (۱) Boll injuries % (1)	0.0128 **	0.0033 ns	0.0038	6	13
شاخص خسارت (۱) Damage index % (1)	0.22 ns	14.50 **	0.34	50	42
تعداد غوزه در بوته (۲) Number of boll per plant (2)	3.91 ns	12.11 **	2.24	17	29
درصد آلودگی غوزه (۲) Boll contamination % (2)	0.012 ns	0.96 **	0.0319	11	57
درصد آلودگی برچه (۲) Locule contamination % (2)	0.0071 ns	0.1308 **	0.0107	13	34
درصد آسیب به غوزه (۲) Boll injuries % (2)	0.0143 **	0.0058 ns	0.0047	9	42
شاخص خسارت (۲) Damage index % (2)	0.26 ns	15.23 ns	0.41	45	51

درجه آزادی اثرهای تکرار، رقم و خطا به ترتیب برابر ۷، ۳ و ۲۱ بوده است.

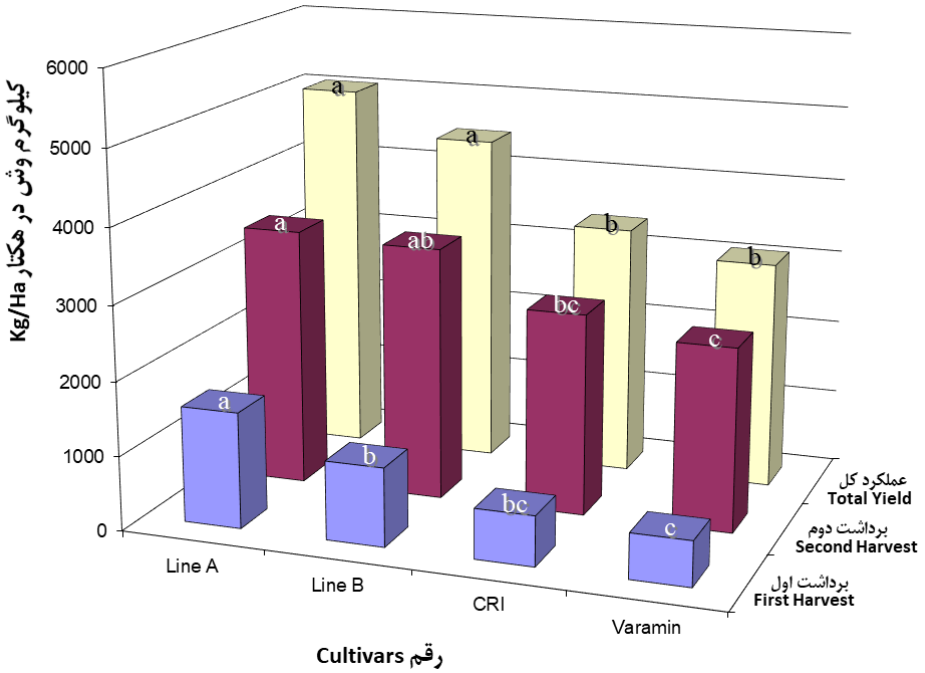
Degree of freedom for replication, cultivar and error effects are 7, 3 and 21, respectively.

ns، * و ** به ترتیب به معنای غیرمعنی‌دار، معنی‌دار (α=0.05) و بسیار معنی‌دار (α=0.01) هستند.

ns, * and ** mean non-significant, significant (α=0.05) and very significant (α=0.01), respectively.

www.SID.ir

Archive of SID

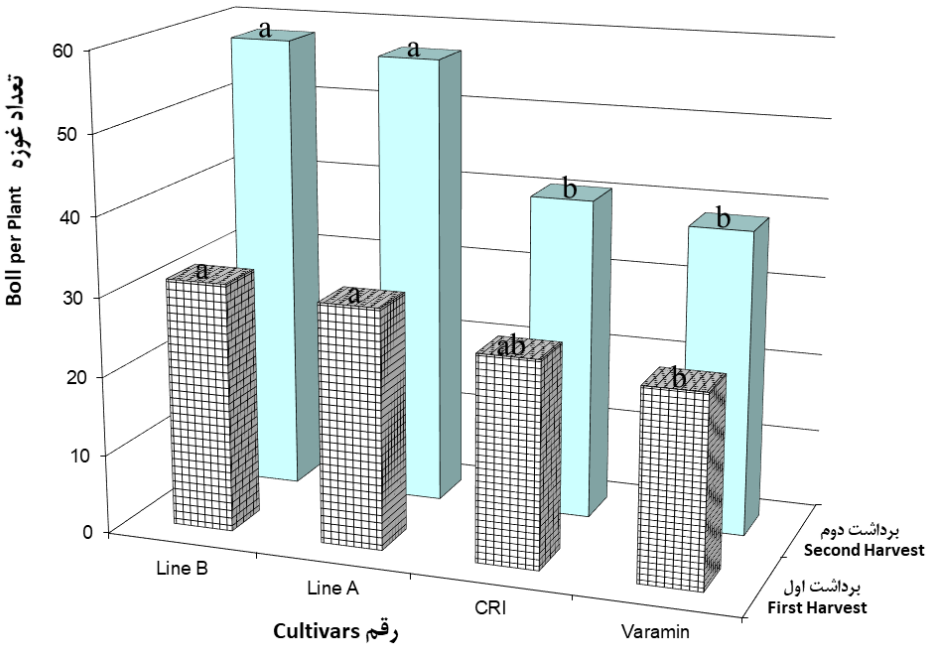


شکل ۱- مقایسه‌های میانگین لاین‌های مورد مطالعه برای عملکرد وش در برداشت اول، دوم و عملکرد کل

جداگانه انجام شده و در اینجا خلاصه‌سازی شده‌اند. این شکل نشان می‌دهد که عملکرد لاین تراریخته A در هر سه وضعیت از سایر ارقام مورد مطالعه بیشتر است.

Figure 1- Illustration of mean comparison for cotton yield of lines in the first harvest, second harvest and total yield

The figure shows that transgenic A line exhibited the best scores in all three traits.



شکل ۲- مقایسه‌های میانگین لاین‌های مورد مطالعه برای صفت تعداد غوزه در بوته در دو برداشت

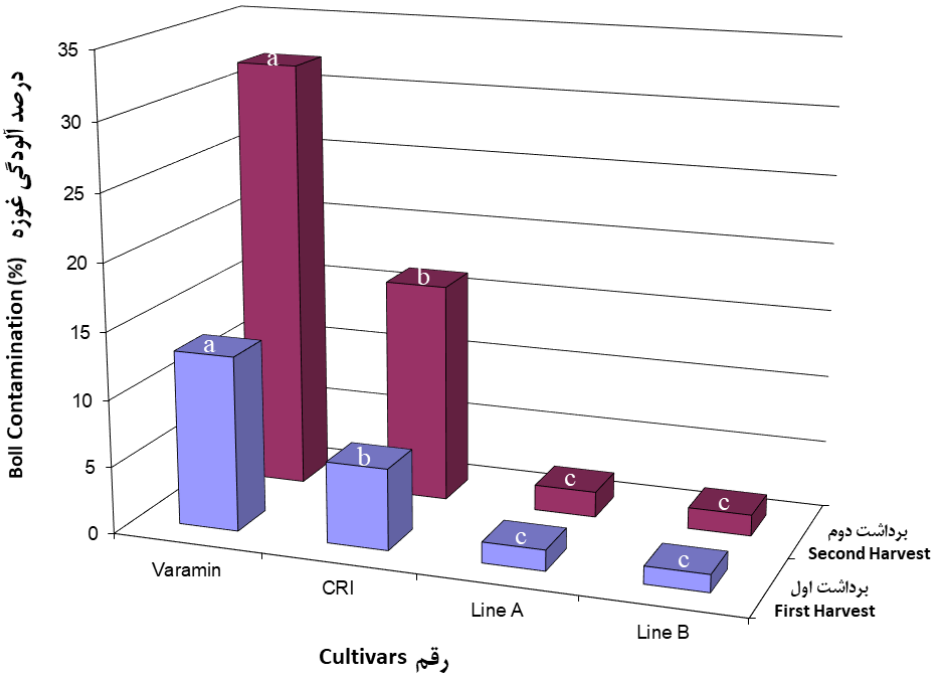
که به صورت جداگانه مورد محاسبه قرار گرفته‌اند. این شکل نشان می‌دهد که لاین‌های تراریخته A و B بیشترین تعداد غوزه در بوته را دارا بوده‌اند.

Figure 2- Illustration of mean comparison for number of boll per plant in two individual scores

The figure demonstrates that he transgenic A and B lines have kept the most boll per plant.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳- مقایسه‌های میانگین درصد آلودگی غوزه در لاین‌های مورد مطالعه در دو برداشت

که به صورت جداگانه مورد محاسبه قرار گرفته‌اند. این شکل نشان می‌دهد که لاین‌های تراریخته B و A کمترین میزان آلودگی غوزه به آفات بالپولکدار را نشان می‌دهند.

Figure 3- Illustration of mean comparison for percentage of contaminated bolls in two individual scores

The figure shows that the least percentage of contaminated bolls was occurred on the transgenic A and B lines.

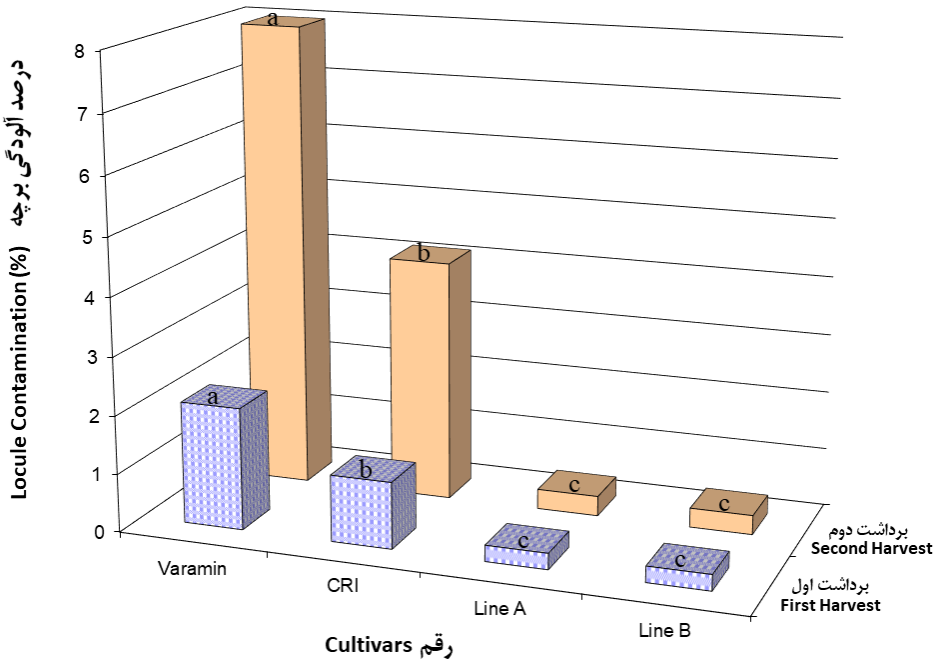
مقایسه‌های میانگین‌های درصد آلودگی برچه در دو برداشت مجزا در شکل ۴ خلاصه شده است. این شکل نشان می‌دهد که رقم ورامین بالاترین درصد آلودگی برچه را در هر دو برداشت اول و دوم داشته است و رقم CRI از این نظر در رتبه بعدی قرار گرفته است. میزان آلودگی رقم ورامین در برداشت اول و دوم به ترتیب برابر ۲ و ۸ درصد بود و مقادیر مربوط به رقم CRI به ترتیب برابر ۱/۱ و ۴/۱ درصد به دست آمد. شکل ۴ نشان می‌دهد که لاین‌های تراریخته B و A از نظر این صفات نیز نسبت به دو رقم دیگر وضعیت بهتری داشته‌اند. درصد آلودگی برچه برای برداشت اول و دوم لاین تراریخته B به ترتیب ۰/۲۷ و ۰/۳۳ درصد و برای لاین تراریخته A به ترتیب ۰/۲۸ و ۰/۳۴ درصد به دست آمد.

صفت درصد آسیب به غوزه‌ها در تجزیه واریانس (جدول ۱) معنی‌دار اعلام نشد. این بدان معناست که لاین‌های مورد آزمایش به صورت یکنواخت در معرض آفات قرار گرفته‌اند. هرچند که اختلاف بین تکرارها برای این صفت، معنی‌دار اعلام شد. این نتیجه به این معناست که هجوم آفات از یک سمت به مزرعه انجام شده است. این وضعیت به شرایط جغرافیایی منطقه آزمایش و وجود مزارع دیگری مثل گوجه‌فرنگی و بادمجان در منطقه که میزبانان دیگر کرم غوزه پنبه هستند، مربوط می‌شود.

مقایسه میانگین شاخص خسارت آفات بالپولکدار در لاین‌های مورد مطالعه در این آزمایش در شکل ۵ آورده شده است. همانگونه که در شکل برمی‌آید، بیشترین خسارت به تولید پنبه در لاین‌های مورد مطالعه در هر دو برداشت اول و دوم به ترتیب با مقادیر ۳/۴ و ۱۲/۱ درصد مربوط به رقم ورامین است. رقم تراریخته CRI نیز در هر دو برداشت اول و دوم با مقادیر ۲ و ۵/۶ درصد از نظر این شاخص در گروه دوم قرار گرفت که با هر دو گروه دیگر اختلاف معنی‌دار نشان داد. ولی کمترین خسارت در لاین‌های تراریخته A و B مشاهده شد. خسارت به لاین A در برداشت اول و دوم به ترتیب برابر ۰/۷۵ و ۰/۵۶ درصد و خسارت به لاین B در برداشت اول و دوم به ترتیب ۰/۴۶ و ۰/۶۹ درصد مورد محاسبه قرار گرفت (شکل ۵). علاوه بر این، این شکل نشان می‌دهد که میزان خسارت دو رقم CRI و ورامین در برداشت دوم افزایش یافته است. این نتیجه با در نظر گرفتن وجود طغیان آفت در اواخر ماه خرداد و پس از برداشت اول قابل توجیه است. با این وجود، میزان خسارت لاین‌های تراریخته A و B در برداشت دوم کاهش نشان می‌دهد. این نتیجه بدان معناست که آفات بالپولکدار در حدفاصل برداشت اول و دوم (حدود سه ماه) نتوانسته‌اند بر روی لاین‌های تراریخته به تغذیه خود ادامه دهند.

www.SID.ir

Archive of SID

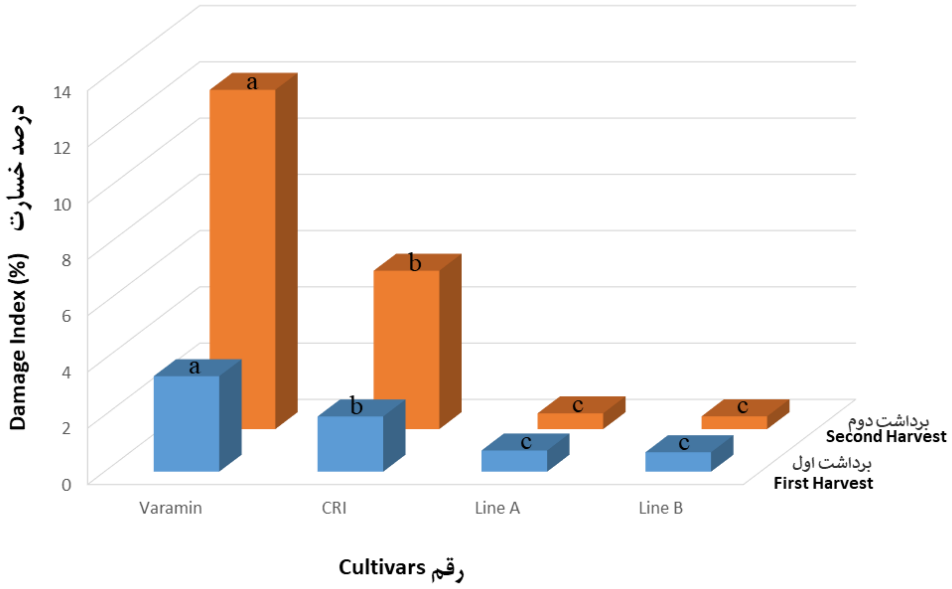


شکل ٤- مقایسه‌های میانگین‌های درصد آلودگی برچه در لاین‌های مورد مطالعه در دو برداشت جداگانه

این شکل نشان می‌دهد که لاین‌های تراریخته B و A کمترین میزان آلودگی برچه را بروز داده‌اند.

Figure 4- Illustration of mean comparison for percentage of contaminated locules in two separated scores

Based on the results, the transgenic A and B lines exhibited the least contamination among the studied lines.



شکل ٥- مقایسه میانگین شاخص خسارت به تولید پنبه در لاین‌های مورد مطالعه در آزمایش تکمیلی بررسی اثر آفات بالپولکدار بر روی لاین‌ها

این شکل نشان می‌دهد که لاین‌های تراریخته B و A کمترین خسارت را از آفات بالپولکدار به خود دیده‌اند.

Figure 5- Illustration of mean comparison for damage index of the lines in response to the feeding of Lepidoptera pests

The figure illustrated that the damage index of the transgenic A and B lines are much less that other studied lines.

www.SID.ir

Archive of SID

آزمایش حاضر با هدف ارزیابی دقیق میزان مقاومت ژنوتیپ‌های مورد بررسی در برابر آفات بالپولکدار و نیز بررسی پتانسیل عملکرد این لاین‌ها و در نهایت، امکان معرفی این لاین‌های تراریخته به عنوان ارقام جدید اجرا شد. نتایج نشان دادند که از نظر عملکرد، لاین‌های تراریخته A و B در مقایسه با رقم شناخته‌شده‌ای مانند ورامین، پتانسیل عملکرد بالاتری دارند (شکل ۱). به طور قطع بخشی از این توانایی به قابلیت این لاین‌ها برای جلوگیری از گسترش آفات بالپولکدار (شکل‌های ۲، ۳، ۴ و ۵) بر می‌گردد. مقایسه شاخص خسارت نشان می‌دهد که رقم غیرتراریخته ورامین در مجموع دو برداشت بیش از ۱۵ درصد خسارت را متحمل شده است. در حالی که این میزان برای لاین‌های تراریخته A و B در حدود یک درصد و برای لاین تراریخته CRI حدود ۸ درصد است. لاین تراریخته CRI در کشور چین به صورت رقم تجاری مورد استفاده قرار دارد.

در مجموع، ارزیابی میزان مقاومت ژنوتیپ‌های مورد بررسی در برابر آفات بالپولکدار نشان داد که لاین‌های تراریخته A و B با داشتن پتانسیل عملکرد مناسب و نیز وجود مقاومت خوب در برابر این آفات این قابلیت را دارد که پس از گذراندن آزمون‌های مربوط به سازگاری و آزمون‌های ثبت رقم و نیز دریافت مجوزهای لازم از مراجع قانونی ذی‌صلاح به عنوان رقم جدید معرفی شود.

منابع

1- Behere G.T., Tay W.T., Russell D.A., Kranthi K.R., and Batterham P. 2013. Population Genetic Structure of the Cotton Bollworm *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) in India as Inferred from EPIC-PCR DNA Markers. PLoS ONE 8(1): e53448. doi:10.1371/journal.pone.0053448.
2- Cooke B.M., Gareth Jones D., and Kaye B. 2006. The Epidemiology of Plant Diseases. Springer, pp. 61.
3- Darvish Mojeni T., 2015. The Cotton Pests and Controls, Norouzi Press, 74 p.
4- Fleming D., Musser F., Reisig D., Greene J., Taylor S., Parajulee M., Lorenz6 G., Catchot A., Gore J., Kerns D., Stewart S., Boykin D., Caprio M., and Little N. 2018. Effects of transgenic Bacillus thuringiensis cotton on insecticide use, heliothine counts, plant damage, and cotton yield: A meta-analysis, 1996-2015. PLoS ONE 13(7): e0200131.
5- Freese W., and Schubert D. 2004. Safety testing and regulation of genetically engineered foods. Biotechnology and Genetic Engineering Reviews 21: 1-24.
6- Govindan K., Gunasekaran K., and Kuttalam S. 2012. Evaluation od Indian transgenic Bt cotton and non Bt cotton against *Spodoptea Litera* Fab. (Nuctuidae: Lepidoptera) fourth and fifth instar larvae. Journal biopest 5(2): 171-177.
7- Heravi P. 2016. Advances in Cotton IPM. Handbook of Cotton Research Institute of Iran. 60 p.
8- Kannan M., and Uthamasamy S. 2006. Abundance of arthropods on transgenic Bt and non-Bt cotton. Journal of Applied Zoological Researches 17: 145-149.
9- James C. 1996. Global Review of the Field Testing and Commercialization of Transgenic Plants: 1986 to 1995. The International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications.
10- Jeyakumar P., Tanwar R.K., Jat M.C., Dhandapani A., Bambawale O.M., and Monga D. 2007. *Spodoptera litura*: An emerging pest on bt cotton (cry 1Ac) under north Indian conditions. Pesticide Research Journal 19: 197-200.
11- Kohli A., Miro B., and Twyman R.M. 2010. Transgene Integration, Expression and Stability in Plants: Strategies for Improvements. In: Transgenic Crop Plants, Vol 1: Principles and Development, Edited by: Cole C., Michler C.H., Abbott A.G., Hall T.C. Springer, pp 201-238.
12- SAS Institute. 1993. SAS/STAT User's Guide, Version 6. Fourth Edition. SAS Institute Inc. Cary, North Carolina, USA.
13- Wan P., Wu K., Huang M., Yu D., and Wu J. 2008. Population dynamics of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) on Bt cotton in the Yangtze River valley of China. Environmental Entomology 37: 1043-1048.
14- Williams M.R. 2016. Cotton insect losses. Mississippi State University; 1986–2015. [Available from: http://www.entomology.msstate.edu/resources/cottoncrop.asp].

www.SID.ir

Journal of Plant Protection
Vol. 33, No.4, Winter 2019, P. 431-440

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۳، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۸، ص. ۴۴۰-۴۳۱

Field Evaluation of Yield and Lepidopteran Pest Resistance in Three Transgenic Cotton Lines

S.E. Mortazavi[1*]- M. Arabsalmani[2]- H. Hassanzadeh Khankahdani[3]

Received: 12-09-2018
Accepted: 28-12-2019

Introduction: The most threatening factor in cotton production worldwide is Lepidoptera pests. The pest management using chemicals imposes huge costs and environmental side effects. Introduction of genetic engineering as a modern technology has opened a new insight for investigators to control the pests through transgenic pest resistant varieties. Cotton was the first transgenic crop which received *cry* genes, and introduced to farmers after numerous field trials. The field trials on evaluation of transgenic lines are a complex process in three levels comprising mini, mid and large scale trials, but the first step in this process is evaluation of transgene in the field condition along with considering other important crop properties. There are several Lepidoptera pests causing damage to cotton in nearly all cotton producing areas worldwide. However, bollworm (*Helicoverpa armigera* Hübner) and spiny cotton bollworms (*Earias vittella* Fabricius and *Earias insulana* Boisduval) are the most the most important pests in Iran. Also, there are many biotypes among different geographical populations. This fact implies that the transgenic lines should be tested in different locations within a country. A number of research works has been conducted to produce transgenic cotton via both modern biotechnology and traditional backcrosses in Iran. As a result, some different transgenic lines harbouring *cry* genes were produced. Primary evaluation of these transgenic lines was resulted to a few lines exhibited the most resistance characters against the pests. More precise evaluation of the lines for pest resistance traits and yield was done in this study.

Materials and Methods: Three transgenic lines harbouring *cry*IAc gene comprising A, B and CRI lines along with a non-transgenic variety as negative control (Varamin) were used in the experiment. The experiment was conducted in a Lepidoptera pest affected farm at Minab, Hormozgan from June to July of 2015. A complete randomized block design with eight replications was adopted as the statistical model. Each plot consisted of eight lines with 8 meters length in which the distance between lines were 80 cm. All agricultural operations including irrigation, fertilizer and weeding were carried out according to local recommendations. During growing season, some properties related to the pest resistance including number of bolls per plant, percentage of contaminated bolls, percentage of contaminated locule, and percentage of boll injuries were recorded, and damage index was then calculated. The varieties yield was recorded as well. All traits were recorded on two separate dates i.e. June and July, 2015. The data were analyzed using SAS software according to the adopted statistical model.

Results and Discussion: Analysis of variance showed that all recorded traits in the experiment were significant for cultivars effect, except for boll injuries percentage. Primarily, the current results demonstrate that all cultivars were exposed to the pest equally. Other traits including number of bolls per plant, percentage of contaminated bolls, percentage of contaminated locule, damage index and yield differed significantly between the cultivars. The mean comparison for number of boll per plant showed that transgenic A and B (transgenic) lines produced and kept the most boll number, and CRI transgenic line and Varamin cultivar ranked as the second. This trait is very important, because it not only acts as a yield component, but also involves in resisting against pests. The mean comparison for contaminated boll and contaminated locule traits showed that non-transgenic Varamin cultivar had the largest contamination amounts. In contrast, transgenic A and B lines exhibited the least contamination for both traits.

The most important trait expressing resistance is damage index. The lowest damage index was calculated for B line (0.69 and 0.46% in June and July, respectively) and A line (0.75 and 0.56% in June and July,

1- Assistant Professor, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, Agricultural Research, Extension and Education (AREEO), Karaj, Iran
(*- Corresponding Author Email: mortazavi@abrii.ac.ir)
2- Assistant Professor, Tehran Agricultural and Natural Resources Research Center, Agricultural Research, Extension and Education (AREEO), Qoddousi Boulvard, Varamin, Tehran, Iran
3- Researcher of Horticulture Crop Research Department of Agricultural and Natural Resources Research and Education Center of Hormozgan, Bandar abbas, Iran

www.SID.ir

Archive of SID

respectively), and CRI line ranked as the second (2 and 5%). Meanwhile, the damage index of Varamin cultivar in this experiment was 3.8 and 11.5% in June and July, respectively. The damage index for A and B transgenic lines in the first and second recording show a downward pattern in contrast to CRI line and Varamin cultivar. Hence, Lepidoptera pests does not succeed in feeding on the A and B lines. Moreover, A and B lines exhibited the best yield (5041 and 4466 kg/ha, respectively), and the CRI line ranked as the second (3382 kg/ha). The Varamin cultivar yield was 3071 kg/ha which was the least record.

Conclusion: In general, two out of three transgenic lines comprising A and B lines had the best yield, the minimum contaminations and injuries by Lepidoptera pests. Varamin cultivar, as non-transgenic control line showed the least tolerance and yield and the CRI cultivar were ranked between the superior transgenic and non-transgenic lines. Both A and B transgenic lines have proper agronomic traits and the best resistance characters against Lepidotera pests. It can be concluded that these lines, as the first Iranian transgenic varieties, can be used for registration and commercialization.

Keywords: Cotton, *Gossypium hirsutum* L., Pest damage index, Resistance, Transgenic lines

www.SID.ir