

شاخص‌های مهم مرتبط با بیماری ویروسی وای سیب‌زمینی (*Potato virus Y*) در مزارع توتون استان گلستان

پریسا شریفی نظام‌آباد^۱، سعید نصراله‌نژاد^{۲*}، محمد علی آقاجانی^۳، اکبر دیزجی^۴، احمد ندیمی^۱

۱- به‌ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار و استادیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران؛ ۳- دانشیار، بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان، گرگان، ایران؛ ۴- دانشیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران (تاریخ دریافت: مرداد ۱۳۹۸؛ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۸)

چکیده

ویروس وای سیب‌زمینی (*Potato virus Y*, PVY)، گونه تپ جنس *Potyvirus* از تیره *Potyviridae*، از جمله ویروس‌های مخرب توتون در دنیا می‌باشد. به‌منظور بررسی وضعیت بیماری ناشی از این ویروس در مزارع توتون استان گلستان، طی فصل زراعی ۱۳۹۶، تعداد ۱۵ مزرعه توتون در سه شهرستان گرگان، علی‌آباد و مینودشت انتخاب شده و در فواصل زمانی ۱۵ روزه مورد بازدید قرار گرفت. در هر مزرعه ۵۰ بوته انتخاب و شاخص‌های میزان وقوع بیماری (DI) و فراوانی دو شته ناقل سبز هلو (*Myzus persicae*, MP) و قرمز توتون (*Myzus persicae* ssp. *nicotiana*, MPN) در آن‌ها ارزیابی شد. به‌منظور ردیابی و ارزیابی غلظت نسبی ویروس (OD) از روش DAS-ELISA با استفاده از آنتی‌سرم چند همسانه‌ای اختصاصی PVY استفاده شد. درصد آلودگی PVY در بین ارقام مختلف توتون متفاوت بوده و بیشینه و کمینه درصد آلودگی به ترتیب در ارقام PVH03 (۳۳/۶ درصد) و بارلی (۶/۲ درصد) ارزیابی شد. براساس نتایج حاصل از تحلیل آماری داده‌ها، بین ارقام توتون در تمام شاخص‌های مورد ارزیابی تفاوت معنی‌دار بوده و ارقام باسما و بارلی نسبت به ارقام گرمخانه‌ای (PVH03، NC100 و K326) دارای حساسیت کمتری به PVY بودند. بیشترین جمعیت هر دو شته روی رقم K326 مشاهده گردید. برای شاخص‌های DI و OD ارتباط همبستگی با دما غیرمستقیم و رطوبت نسبی و میزان بارندگی مستقیم ارزیابی شد و DI بیشترین میزان همبستگی را با تغییرات بارندگی ($r=0.98$ و $P=0.004$) داشت.

واژه‌های کلیدی: توتون، شته سبز هلو، PVH03، Disease incidence، DAS-ELISA.

The *Potato virus Y* main disease indicators in tobacco fields of Golestan province

P. SHARIFI NEZAMABAD¹, S. NASROLLAH NEJAD^{2*}, M. A. AGHAJANI³, A. DIZADJI⁴, A. NADIMI¹

1 and 2. PhD. Student, associate professor & assistant professor, respectively; Department of Plant Protection, Faculty of Plant Production, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran; 3. Associate professor, Department of Plant Protection, Agricultural and Natural Resources and Research Center of Golestan province, Gorgan, Iran; 4. Associate professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Science and Engineering, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

Abstract

Potato virus Y, is the type member of the genus *Potyvirus*, family *Potyviridae* is of the most destructive viruses of tobacco worldwide. In order to detect PVY and its distribution in Golestan province, several surveys were conducted during July to October 2017 at 15 days intervals in tobacco fields of Gorgan, Aliabad and Minoodasht. 50 plant was selected for each farm and various disease incidence (DI) and population frequency of the virus vector (MP and MPN) were evaluated. Double antibody sandwich-ELISA (DAS-ELISA) using PVY-specific polyclonal antibodies was used to estimate changes in the relative concentrations of PVY. The rate of PVY infection was different among tobacco cultivars and the maximum and minimum infection rates were belonged to PVH03 (33.6%) and Barley (6.2%) cultivars respectively. Based on the statistical analysis of data, there was a significant difference for disease indicators and the virus vector on different tobacco cultivars, as Basma and Barley were less susceptible to PVY than Flue-cured cultivars (PVH03, NC100 and K326). Also, the K326 cultivar has the highest *Myzus persicae* ssp. *nicotiana* and *Myzus persicae* populations. There was a direct correlation between disease incidence (DI) and PVY relative concentration (OD) and relative humidity and rainfall changes so that DI with rainfall changes had the highest Correlation ($r = 0.98$ and $P = 0.004$).

Keywords: DAS-ELISA, Disease incidence, *Myzus persicae*, PVH03, Tobacco

* Corresponding author: snasrollanejad@yahoo.com

مقدمه

گیاه توتون (*Nicotiana tabacum* L.) از خانواده بادمجانیان (*solanaceae*)، یک محصول اقتصادی مهم است که در بسیاری از نقاط جهان کشت می‌شود. طبق آمار شرکت دخانیات ایران، استان گلستان با بیشترین سطح زیر کشت توتون در کشور (۲۳۴۳ هکتار) ۵۹/۹ درصد تولید سالانه توتون ایران را به خود اختصاص داده است (آمارنامه شرکت دخانیات ایران، ۱۳۹۶). اداره آمار و اطلاعات مرکز برنامه ریزی و نظارت بر دخانیات ایران، شهرستان‌های علی‌آباد، گرگان و مینودشت مهمترین مناطق کشت توتون در استان گلستان می‌باشند. در علی‌آباد و گرگان تیپ‌غربی توتون (گروه‌های ویرجینیا و بارلی) و در مینودشت تیپ‌شرقی (رقم باسما) کشت می‌شوند که بیشترین سطح زیر کشت (۶۱ درصد) مربوط به گروه ویرجینیا با ارقام متعددی نظیر NC100، K326 و PVH03 می‌باشد (بی‌نام، ۱۳۹۶).

بیماری‌های ویروسی از مهم‌ترین مشکلات کشت توتون بوده و ویروس وای سیب‌زمینی (*Potato virus Y*, PVY) مخرب‌ترین ویروس توتون در دنیا می‌باشد (Tsedaley, 2015). این ویروس دارای انتشار جهانی بوده و به‌عنوان پنجمین ویروس مهم اقتصادی جهان شناخته شده است (Scholthof et al., 2011). ویروس وای سیب‌زمینی گونه تیپ جنس *Potyvirus* (تیره *Potyviridae*) است (Kerlan, 2006; Scholthof et al., 2011). این ویروس دارای دامنه میزبانی وسیعی بوده و در شرایط طبیعی بیش از نه خانواده گیاهی (از جمله بادمجانیان شامل سیب‌زمینی، توتون، گوجه‌فرنگی و فلفل) را آلوده می‌کند (Tsedaley, 2015). بسته به سویه ویروس، رقم توتون و زمان آلودگی، PVY می‌تواند سبب کاهش ۳۹ تا ۷۵ درصد محصول گردد، البته سویه N (PVY^N) بسته به زمان آلودگی و رقم میزبان می‌تواند سبب نابودی ۱۰۰ درصد محصول نیز گردد (Singh et al., 2008; Tsedaley, 2015).

PVY یکی از شایع‌ترین ویروس‌های مزارع توتون استان‌های شمال ایران با نرخ آلودگی ۵۴/۶ درصد می‌باشد

(Khateri et al., 2015). این ویروس توسط بیش از ۵۰ گونه شته متعلق به خانواده *Aphididae* و به‌صورت ناپایا منتقل می‌شود (Robert and Bourdin, 2001; Lacroix et al., 2010). تاکنون مدل‌هایی برای پیش‌آگاهی بیماری‌های مختلف ویروسی از جمله PVY در سیب‌زمینی (Ruesink and Irwin, 1986) ارائه شده است. بر اساس نتایج مطالعات همه‌گیری شناسی بیماری PVY در مزارع سیب‌زمینی، گونه‌های مختلف ناقل توانایی‌های متفاوتی در انتقال ویروس داشته و همچنین پرواز شته‌های ناقل در اوایل فصل رشدی به‌عنوان یک عامل تعیین‌کننده در میزان شیوع ویروس در مزارع سیب‌زمینی بوده است (Kirchner et al., 2013; 2014). در سوئیس، پایش فعالیت شته‌های بالدار و داده‌های مربوط به جمعیت آنها برای محاسبه فشار ناقل به‌عنوان یک شاخص برای خطر انتقال PVY در مزارع بذر سیب‌زمینی استفاده شده است (Steinger et al., 2014; Lacomme et al., 2017). با توجه به نبود یک روش کارآمد برای حفاظت مستقیم بوته‌های توتون در برابر آلودگی به PVY، یا کنترل انتقال ویروس توسط شته‌ها، مقاومت ژنتیکی در برابر PVY به‌عنوان ابزاری امیدبخش مورد توجه قرار گرفته است (Lacroix et al., 2010). اما این ویروس دارای تنوع درون گونه‌ای بالایی بوده و بروز سویه‌های غلبه‌کننده بر مقاومت گیاهان، امکان استفاده از منابع طبیعی مقاومت در میزبان‌ها را محدود کرده است (Lacroix et al., 2010; Chen et al., 2010). مطالعات زیادی روی تنوع ژنتیکی این بیمارگر در دنیا صورت گرفته است و بر اساس مطالعات مولکولی صورت گرفته نه سویه PVY^O، PVY^N، PVY^{NTN}، PVY^{NA-N}، PVY^E، PVY^{N-Wi}، PVY^{N-O} و PVY^{NE-11} برای این ویروس گزارش شده است (Tian et al., 2011; Nanayakkara et al., 2012). سه سویه N، O و C در مزارع توتون ایران شیوع دارد و سویه O (PVY^O) به‌عنوان سویه غالب معرفی شده است (Khateri, et al., 2015). تاکنون مطالعه‌ای در زمینه‌ی همه‌گیری ویروس وای سیب‌زمینی در کشور صورت نگرفته است. با توجه به جایگاه استان گلستان

نشانه گذاری و تا پایان فصل زراعی ارزیابی شد. جهت حذف اثر حاشیه در جمع‌آوری داده‌ها، اولین ردیف به فاصله سه متر از حاشیه مزرعه انتخاب شد. فواصل بین ردیف‌ها بسته به مساحت مزرعه به گونه‌ای انتخاب شدند که بتوان ارزیابی درستی از کل مزرعه داشت. بیشترین سطح زیر کشت (۶۶/۶۶ درصد) در مزارع مورد ارزیابی مربوط به ارقام باسما (تیپ شرقی، مزارع یک تا پنج از مینودشت) و NC100 (مزارع ۱۱، ۱۲ از پیچک محله و ۱۴ از فاضل‌آباد و هشت و ۱۰ از تقرتیه) و کمترین سطح زیر کشت (۶/۶۷ درصد) مربوط به رقم PVH03 (مزرعه ۱۵ از فاضل‌آباد) بود. همچنین ارقام بارلی (مزارع شش و هفت از والش‌آباد) و K326 (مزارع ۹ از تقرتیه و ۱۳ از فاضل‌آباد) نیز ۲۶/۶۶ درصد سطح زیر کشت را داشتند. بر اساس مقیاس مراحل رشدی توتون BBCH (BBCH-scale "Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt" und Chemische Industrie) (Coresta guide, 2009)، در اولین مرحله بازدید، مزارع شماره یک تا پنج از شهرستان مینودشت دارای کد مرحله رشدی ۳۲۰۳-۳۲۰۱، مزارع شماره هفت و نه از شهرستان گرگان دارای کد مرحله رشدی ۱۱۰۵، مزارع شش، هشت و ۱۰ از شهرستان گرگان و مزارع شماره ۱۱ تا ۱۵ از شهرستان علی‌آباد، دارای کد مرحله رشدی ۱۱۰۸-۱۱۱۰ بودند.

ارزیابی آلودگی بوته‌های مورد بررسی به PVY و برآورد غلظت نسبی ویروس

در هر بازه زمانی، آلودگی بوته‌های مورد ارزیابی هر مزرعه (۵۰ بوته) به PVY، به روش ساندویچ دوطرفه الیزا (double antibody sandwich-enzyme linked immunosorbent assay, DAS-ELISA) (Clark and Adams, 1977) و با استفاده از آنتی‌سرم چند همسانه‌ای اختصاصی PVY (AS-0343) تهیه شده از موسسه DSMZ آلمان) بررسی شد. میزان جذب نور چاهک‌های پلیت الیزا در طول موج ۴۰۵ نانومتر (OD₄₀₅) توسط دستگاه خوانشگر الیزا (ELISA-Reader) ثبت و نمونه‌هایی با میزان جذب نور سه برابر میانگین جذب شاهد

در تولید گیاه صنعتی توتون در کشور از نظر درجه کیفیت محصول تولیدی، جایگاه سوم برای ارقام بارلی (با ۳۱/۲۲ درصد تولید) و باسما (با ۱۶/۰۶ درصد تولید) و اول برای ویرجینیا (با ۳۱/۸۳ درصد تولید) ذکر شده، اما بالاترین درصد محصول تولیدی ویرجینیا (۵۷/۶۰ درصد) در استان در سال ۱۳۹۶، از نظر کیفیت درجه دو دسته بندی شده است. یکی از دلایل اصلی کاهش کیفیت محصول تولیدی می‌تواند میزان بالای وقوع بیماری‌های ویروسی از جمله PVY باشد. با توجه به اهمیت این ویروس در کاهش کمیت و کیفیت این محصول به خصوص در زمینه صادرات، مطالعه برخی جنبه‌های همه‌گیری این بیماری ضرورت دارد. هدف از اجرای این پژوهش، بررسی وضعیت آلودگی مزارع توتون و مطالعه جنبه‌های مختلف همه‌گیری شناسی و مشخص کردن اثر شرایط محیطی بر وقوع بیماری است که می‌تواند نقش بسیار کمک کننده‌ای در ارائه راهکارهای مدیریتی مناسب برای بیماری ناشی از ویروس وای سیب‌زمینی در مزارع توتون داشته و در نهایت منجر به افزایش کمیت و کیفیت تولید این محصول صنعتی گردد.

روش بررسی

تعداد ۱۵ مزرعه در مناطق عمده کشت توتون استان گلستان شامل شهرهای گرگان، علی‌آباد و مینودشت (محدوده‌ی جغرافیایی بین عرض‌های ۳۶ درجه و ۵۰ دقیقه تا ۳۷ درجه و ۱۳ دقیقه شمالی و طول ۵۴ درجه و ۳۷ دقیقه تا ۵۵ درجه و ۳۶ دقیقه شرقی) و به روش آقاجانی و همکاران (Aghajani *et al.*, 2008) انتخاب گردید (شکل ۱). بازدید مزارع از نیمه اول تیر تا نیمه دوم مهر ماه (پایان فصل رشد) به طور میانگین در فواصل زمانی ۱۵ روز (در پنج زمان ۱۰ و ۲۵ تیر، ۱۳ مرداد، ۲ و ۲۴ شهریور ماه برای مینودشت؛ ۲۵ تیر، ۹ مرداد، ۲ و ۲۱ شهریور و ۱۸ مهرماه برای گرگان و علی‌آباد) انجام و از هر مزرعه پنج ردیف و ۱۰ بوته در هر ردیف (۵۰ بوته در هر مزرعه به صورت تصادفی) انتخاب،

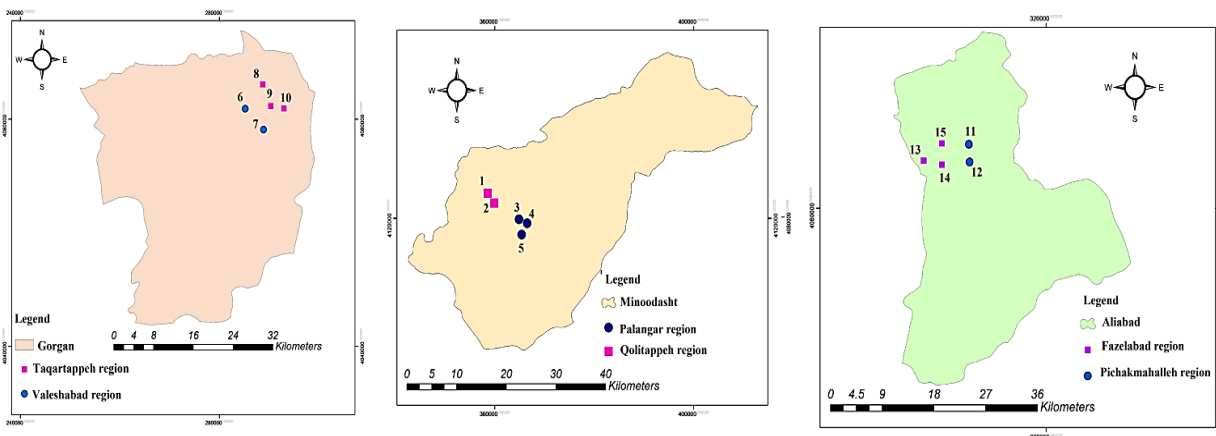
منفی (گیاه سالم) به‌عنوان نمونه آلوده به PVY در نظر گرفته شد. غلظت نسبی ویروس در بوته‌های آلوده به روش آزمون الایزای کمی (quantitative ELISA) در رقت ۱۰ برابر عصاره گیاهان و با سه تکرار برای هر نمونه ارزیابی شد. این رقت براساس ارزیابی مقدماتی و مشاهده بهترین رابطه خطی بین غلظت نسبی ویروس و OD₄₀₅ انتخاب شد.

برآورد شاخص وقوع بیماری (Disease incidence, DI)

براساس نتایج آزمون الایزا، شاخص وقوع بیماری برای هر مزرعه در هر بازه زمانی با استفاده از معادله‌ی $DI = \sum x / N$ (که در آن x ، تعداد بوته‌های بیمار و N تعداد کل بوته‌های مورد ارزیابی) (Cardoso *et al.*, 2004) محاسبه گردید.

تغییرات جمعیت شته سبز هلو (*Myzus persicae*) و شته قرمز توتون (*Myzus persicae* ssp. *nicotiana*)

تغییرات جمعیت مهمترین شته‌های توتون، شته سبز هلو (*Myzus persicae*) و شته قرمز توتون (*Myzus persicae* ssp. *nicotiana*)، در ۱۰ برگ از هر بوته ارزیابی (موقعیت لچه برگ) و در بازه‌های زمانی ۱۵ روز به روش کریچنر و همکاران (Kirchner *et al.*, 2014) پایش شد. به منظور تحلیل آماری جمعیت شته‌ها نیز از مدل‌های خطی عمومی شده



شکل ۱- مختصات جغرافیایی مزارع مورد ارزیابی در مناطق کشت توتون استان گلستان در سال زراعی ۱۳۹۶.

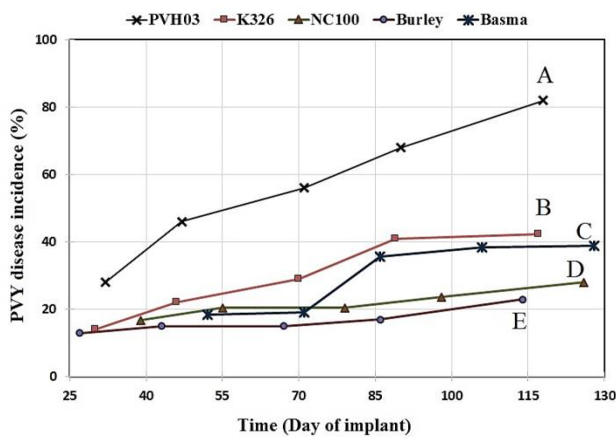
Fig. 1. Geographical coordinates of tobacco surveyed fields in Tobacco cultivation areas of Golestan province in the 2017 cultivation season.

برآورد شاخص (Area under the disease progress curve) AUDPC

مقادیر AUDPC برای میزان وقوع، غلظت نسبی ویروس، جمعیت شته سبز هلو و شته قرمز توتون در هر مزرعه در طول فصل زراعی بر اساس معادله $AUDPC = \sum_{i=1}^{n-1} [(X_i + X_{i+1}) / 2] (t_{i+1} - t_i)$ (که در آن X_i ، مقدار بیماری یادداشت‌برداری شده در زمان t) محاسبه گردید. در مورد سطح زیر منحنی تغییرات جمعیت شته (Area under the dynamics of aphid population curve, AUDAPC) و غلظت نسبی ویروس (Area under the OD changes curve, AUODPC) (به ترتیب جمعیت شته یادداشت‌برداری شده و غلظت نسبی ویروس در زمان t) محاسبه گردید (Campbell and Madden, 1990 and Cooke, 2006).

تحلیل آماری داده‌ها

تحلیل‌های آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار 17.2.0 Statgraphics Centurion (Polhemus, 1980) شرکت (Statpoint Technologies, Inc., Warrenton, Virginia) و به روش GLMs صورت پذیرفت.



شکل ۲- منحنی پیشرفت بیماری PVY بر اساس درصد وقوع بیماری

(DI) در ارقام توتون مورد بررسی در فصل زراعی ۱۳۹۶: (A) رقم

(PVH03, B) رقم K326, C) رقم NC100, D) رقم باسما و E) رقم بارلی.

Fig. 2. PVY disease incidence progress curve in different tobacco cultivars during 2017 cultivation season;

A, PVH03; B, K326; C, NC100; D, Basma and E, Burley.

سطوح مختلف اختلاف معنی‌داری (در اغلب موارد $P \leq 0.01$) نشان دادند (جدول ۱). مقایسه میانگین این دو شاخص در سطوح مختلف مورد نظر (شهرستان، منطقه، مزرعه، خط کشت، رقم توتون و زمان نمونه‌برداری) در جدول ۲ بیانگر بیشینه و کمینه مقدار هر شاخص در هر سطح می‌باشد. در این جدول هماهنگی مناسبی بین این دو شاخص در سطوح مختلف قابل مشاهده بود. برخلاف اختلاف غیرمعنی‌دار DI در سطح شهرستان، شاخص غلظت نسبی PVY در مینودشت به‌طور معنی‌داری کمتر از گرگان و علی‌آباد بود. همچنین برخلاف اختلاف غیرمعنی‌دار غلظت نسبی ویروس در سطح ردیف کاشت، شاخص DI ردیف دو با اختلاف معنی‌داری کمتر از ردیف‌های یک و پنج تعیین شد. بین ارقام توتون نیز، کمینه غلظت نسبی PVY در نمونه‌های آلوده ارقام بارلی و باسما و بیشینه این شاخص در رقم PVH03 ارزیابی شد. به‌طور مشابه، کمینه و بیشینه مقدار شاخص DI به‌ترتیب در ارقام بارلی و PVH03 تعیین شد (شکل ۲). این دو شاخص در سطح منطقه فاضل‌آباد، مزرعه شماره ۱۰ و بازه زمانی نمونه‌برداری T1 با اختلاف معنی‌داری بیشتر از سایر موارد همان سطح بود (جدول ۲).

نتایج

براساس نتایج آزمون ساندویچ دوطرفه الیزا از ۳۶۹۰ نمونه مورد بررسی در مجموع ۵۰۷ نمونه (۱۳/۷۳ درصد) به PVY آلوده بودند. آلودگی PVY براساس تیپ توتون در تیپ‌های غربی (ارقام PVH03, NC100, K326 و بارلی) و شرقی (رقم باسما) به ترتیب ۷۶/۱۳ (۳۸۶ از ۵۰۷ نمونه) و ۲۳/۸۶ درصد و براساس شهرستان در گرگان، علی‌آباد و مینودشت به ترتیب ۴۱/۴۲ (۲۱۰ از ۵۰۷ نمونه)، ۳۴/۷۱ (۱۷۶ از ۵۰۷ نمونه) و ۲۳/۸۶ (۱۲۱ از ۵۰۷ نمونه) درصد تعیین شد. بیشترین و کمترین درصد وقوع بیماری در مزارع توتون مناطق تقریباً (از شهرستان گرگان با ۲۳/۸۷ درصد (۱۷۹ از ۷۵۰ نمونه)) و پیچک محله (از شهرستان علی‌آباد با ۴/۶ درصد (۲۱ از ۴۵۰ نمونه)) تعیین گردید. درصد آلودگی PVY در بین ارقام مختلف توتون متفاوت بوده و در ارقام PVH03, NC100, K326, باسما و بارلی به‌ترتیب ۳۳/۶ (۸۴ از ۲۵۰ نمونه)، ۱۶/۴۲ (۱۹۷ از ۱۲۰۰ نمونه)، ۱۵/۱ (۷۴ از ۴۹۰ نمونه)، ۹/۶۸ (۱۲۱ از ۱۲۵۰ نمونه) و ۶/۲ (۳۱ از ۵۰۰ نمونه) درصد تعیین گردید. بیشترین و کمترین درصد وقوع بیماری به ترتیب مربوط به رقم PVH03 و بارلی می‌باشد (شکل ۲). بیشینه میزان وقوع بیماری ناشی از PVY در شهرستان‌های علی‌آباد و گرگان به‌ترتیب ۲۲/۸ درصد (۵۷ از ۲۵۰ نمونه) در اواخر شهریور (T4، ۲۱ شهریور ماه (۱۱۷-۹۰ روز پس از نشاکاری)) و ۱۸/۴ درصد (۴۶ از ۲۵۰ نمونه) (اواسط مهرماه (T5، ۱۸ مهر ماه (۱۱۷-۱۱۱ روز پس از نشاکاری)) مشاهده گردید. در حالی که در شهرستان مینودشت ۲۴/۴ درصد (۶۱ از ۲۵۰ نمونه) در زمان سوم (T3، ۱۳ مرداد ماه) ۹۱-۸۴ روز پس از تاریخ نشاکاری بود.

تحلیل آماری شاخص‌های DI و غلظت نسبی (OD₄₀₅)

تحلیل آماری داده‌های مربوط به شاخص‌های وقوع بیماری (DI) و غلظت نسبی ویروس (OD₄₀₅) در سطوح مختلف (شهرستان، منطقه، مزرعه، خط کشت، رقم توتون و زمان نمونه‌برداری) نشان داد که به جز DI (در سطح شهرستان) و غلظت نسبی PVY (در سطح ردیف)، این دو شاخص در سایر

جدول ۱- تجزیه‌ی واریانس شاخص‌های مختلف بیماری ناشی از آلودگی توتون به PVY در شهرستان‌های مینودشت، علی‌آباد و گرگان در فصل زراعی ۱۳۹۶.

Table 1. Analysis of variance of PVY different parameters in tobacco plants in Gorgan, Aliabad and Minoodasht locations during 2017 cultivation season.

	DI			OD		MP		MPN	
	Df	Mean Square	P-Value	Mean Square	P-Value	Mean Square	P-Value	Mean Square	P-Value
City	2	9.01	0.34 ^{ns}	105.686	0.00 ^{**}	7441.07	0.00 ^{**}	315.335	0.1 ^{ns}
Residual	3683	8.5		2.589		940.611		148.513	
Region	5	3.467	0.00 ^{**}	1.826	0.00 ^{**}	6769.16	0.00 ^{**}	340.558	0.04 ^{**}
Residual	3680	0.09		0.04		936.287		148.344	
Cultivar	4	2.859	0.00 ^{**}	2.094	0.00 ^{**}	15839.9	0.00 ^{**}	669.78	0.00 ^{**}
Residual	3681	0.09		0.04		928.037		148.039	
Field	14	5.515	0.00 ^{**}	1.960	0.00 ^{**}	15578.3	0.00 ^{**}	490.9	0.00 ^{**}
Line	4	0.159	0.05 [*]	0.043	0.43 ^{ns}	961/961	0.39 ^{ns}	307.807	0.07 [*]
Time	4	0.891	0.00 ^{**}	1.011	0.00 ^{**}	6491.48	0.00 ^{**}	173.287	0.3 ^{ns}
Residual	3667	0.08		0.04		888.44		147.127	
Total	3689								

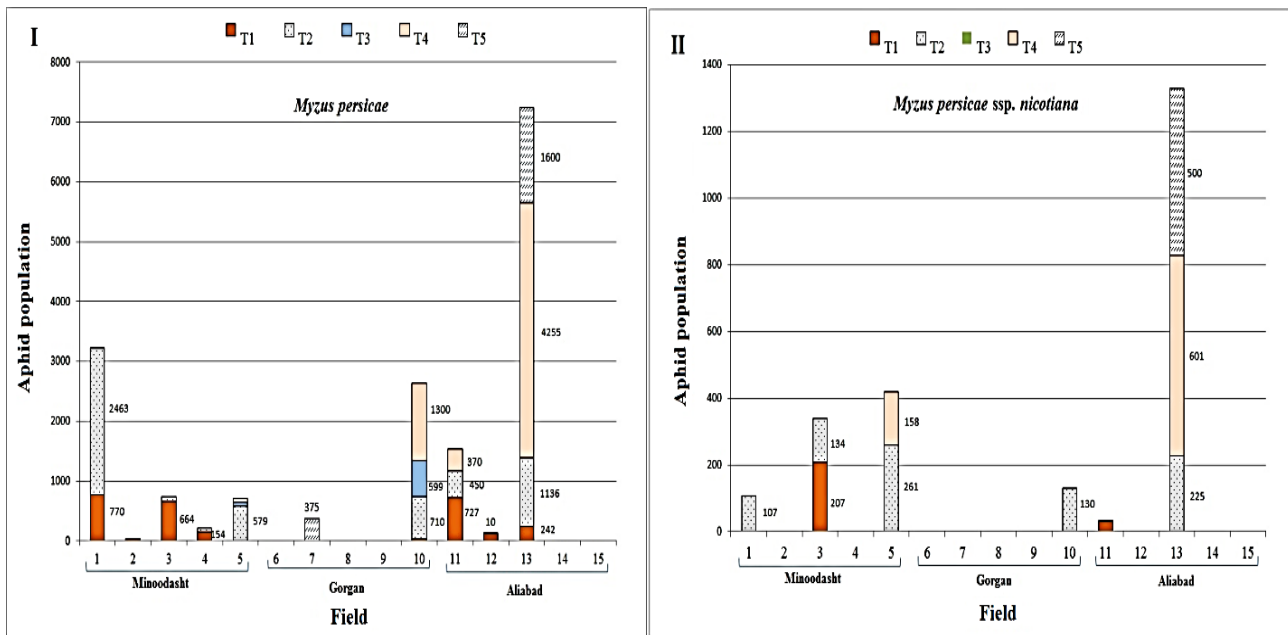
**، * و ns به ترتیب به مفهوم معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۱ درصد، ۵ درصد و غیر معنی‌دار بودن می‌باشند.

میزان وقوع (DI) و غلظت نسبی PVY (OD_{405nm})، جمعیت شته سبز هلو (*Myzus persicae*) MP و شته قرمز توتون MPN (*Myzus persicae* ssp. *nicotianae*)

**, *, denotes a statistically significant difference at the probability level of 1%, 5% and ns: non-meaningful, respectively. Diseases incidence (DI), PVY relative concentration (OD), population of *Myzus persicae* (MP) and *Myzus persicae* ssp. *nicotianae* (MPN)

گردید. میانگین جمعیت شته‌ها بین ردیف‌های کشت تفاوت معنی‌داری نداشته در حالی که بین ارقام توتون، در رقم K326 با اختلاف معنی‌داری بیشتر از سایر ارقام بود. برخلاف MPN، میانگین جمعیت MP در زمان‌های t2 و t4 با اختلاف معنی‌داری بیشتر از سایر زمان‌ها و در سطح شهرستان در علی‌آباد با اختلاف معنی‌داری بیشتر از مینودشت و گرگان بود (جدول ۲). در مینودشت، تغییرات جمعیت هر دو شته در زمان‌های t1 و t2 در مزارع مختلف مشاهده شد. در گرگان، نوسانات جمعیت هر دو شته در مزرعه ۱۰ مشهود بود، بطوری که بیشینه جمعیت MP و MPN به ترتیب در t4 (۱۳۰۰ عدد) و t2 (۱۳۰ عدد) بوده است. در علی‌آباد، تغییرات جمعیت MP شدیدتر از MPN بود، به طوری که بیشینه جمعیت هر دو شته در مزرعه ۱۳ و زمان t4 MP (۴۲۵۵ عدد) و MPN (۶۰۱ عدد) در اواخر شهریور تعیین شد (شکل ۳).

تغییرات جمعیت شته سبز هلو و قرمز توتون و تحلیل آماری آن‌ها
تغییرات جمعیت شته‌های سبز هلو (MP) و قرمز توتون (MPN) در سطوح مختلف (شهرستان، منطقه، مزرعه، خط کشت، رقم توتون و زمان نمونه‌برداری) به صورت آماری ارزیابی گردید. بر اساس نتایج حاصل از تحلیل آماری، برای جمعیت شته سبز هلو، به جز سطح ردیف در سایر سطوح تفاوت معنی‌دار ($P=0.00$) بود، در حالی که جمعیت شته قرمز توتون، فقط در سطوح منطقه، مزرعه و رقم اختلاف معنی‌داری ($P=0.00$) نشان داد (جدول ۱). به طور کلی جمعیت MP بیشتر از MPN بود، به طوری که MP در اغلب مزارع مشاهده و شمارش شد، در حالی که MPN در حدود ۵۰ درصد مزارع (با جمعیت پایین) مشاهده شد. بیشینه میانگین جمعیت هر دو شته در مزرعه شماره ۱۳ تعیین



شکل ۳- تغییرات جمعیت شته سبز هلو (I) و قرمز توتون (II) در مزارع توتون در زمان‌های مختلف بررسی (t) در طول فصل زراعی ۱۳۹۶ (اعداد محور عمودی بیانگر مجموع تعداد شته‌های شمارش شده در هر بازدید در روی ۵۰ برگ از ۵۰ بوته می‌باشند).

Fig. 3. Aphid population changes in tobacco fields at different times (t) during 2017 cultivation season, I) *Myzus persicae* and II) *Myzus persicae* ssp. *nicotianae* (Vertical axis numbers represent the aphids population at 50 surveyed leaves of 50 plants per field).

برآورد، تحلیل آماری و مقایسه AUDPC شاخص‌های بیماری
مقادیر AUDPC شاخص‌های وقوع بیماری، غلظت نسبی
ویروس، جمعیت شته سبز هلو و قرمز توتون در سطوح
مختلف مورد نظر (شهرستان، منطقه، مزرعه، خط کشت، رقم
توتون و زمان نمونه‌برداری) محاسبه شد. بر اساس
نتایج، AUMPNDPC در هیچ یک از سطوح مورد بررسی
تفاوت معنی‌داری نشان نداد. AUODC در تمام سطوح مورد
بررسی (به جز ردیف)، AUDIPC در سطوح منطقه، مزرعه و
رقم و AUMPDPD نیز در سطوح مزرعه و رقم تفاوت
معنی‌داری نشان دادند (جدول ۳). براساس نتایج حاصل از
مقایسه میانگین، بیشینه AUODC (جذب ۳۶/۱۶۰۶)،
AUDIPC (۷۶۳۹) مربوط به مزرعه شماره ۱۰ (منطقه تفرتیه)
از شهرستان گرگان و کمینه AUODC (جذب ۱۰/۹۴۴)
مربوط به مزرعه شماره ۱۱ (منطقه فاضل‌آباد) از شهرستان
علی‌آباد بود در حالی که کمینه میزان AUDIPC (۱۷۴) مربوط
به مزرعه شماره ۱۴ (منطقه فاضل‌آباد) از شهرستان علی‌آباد
می‌باشد. بر اساس نتایج، بیشینه و کمینه‌ی میزان
AUMPDPD و AUMPNDPC برای هر دو شته سبز هلو و قرمز توتون به
ترتیب مربوط به مزارع شماره ۱۳ و ۱۵ (منطقه فاضل‌آباد) از
شهرستان علی‌آباد بود. در بین ارقام نیز، بیشینه و کمینه‌ی
میزان AUDIPC به ترتیب در ارقام PVH03 (۵۰۵۷) و بارلی
(۱۴۴۸) ارزیابی شد (جدول ۲).

برآورد، تحلیل آماری و مقایسه AUDPC شاخص‌های بیماری
مقادیر AUDPC شاخص‌های وقوع بیماری، غلظت نسبی
ویروس، جمعیت شته سبز هلو و قرمز توتون در سطوح
مختلف مورد نظر (شهرستان، منطقه، مزرعه، خط کشت، رقم
توتون و زمان نمونه‌برداری) محاسبه شد. بر اساس
نتایج، AUMPNDPC در هیچ یک از سطوح مورد بررسی
تفاوت معنی‌داری نشان نداد. AUODC در تمام سطوح مورد
بررسی (به جز ردیف)، AUDIPC در سطوح منطقه، مزرعه و
رقم و AUMPDPD نیز در سطوح مزرعه و رقم تفاوت
معنی‌داری نشان دادند (جدول ۳). براساس نتایج حاصل از
مقایسه میانگین، بیشینه AUODC (جذب ۳۶/۱۶۰۶)،
AUDIPC (۷۶۳۹) مربوط به مزرعه شماره ۱۰ (منطقه تفرتیه)
از شهرستان گرگان و کمینه AUODC (جذب ۱۰/۹۴۴)
مربوط به مزرعه شماره ۱۱ (منطقه فاضل‌آباد) از شهرستان
علی‌آباد بود در حالی که کمینه میزان AUDIPC (۱۷۴) مربوط
به مزرعه شماره ۱۴ (منطقه فاضل‌آباد) از شهرستان علی‌آباد
می‌باشد. بر اساس نتایج، بیشینه و کمینه‌ی میزان
AUMPDPD و AUMPNDPC برای هر دو شته سبز هلو و قرمز توتون به
ترتیب مربوط به مزارع شماره ۱۳ و ۱۵ (منطقه فاضل‌آباد) از
شهرستان علی‌آباد بود. در بین ارقام نیز، بیشینه و کمینه‌ی
میزان AUDIPC به ترتیب در ارقام PVH03 (۵۰۵۷) و بارلی
(۱۴۴۸) ارزیابی شد (جدول ۲).

جدول ۲- مقایسه میانگین شاخص‌های مختلف بیماری ناشی از آلودگی توتون به PVY در شهرستان‌های مینودشت، علی‌آباد و گرگان در فصل زراعی ۱۳۹۶.

Table 2. Average values of PVY different parameters in tobacco in Gorgan, Aliabad and Minoodasht locations during 2017 cultivation season.

City/ Region/ Field/ Cultivar/ Time	LS Mean							
	DI	OD	MP	MPN	AUDIPC	AUODC	AUMPDPC	AUMPNDPC
Gogan	14.48 ^a	0.2263 ^a	2.49 ^b	0.10 ^a	2315.4 ^a	19.097 ^a	2595.9 ^a	104.32 ^a
Aliabad	12.26 ^a	0.2440 ^a	7.45 ^a	1.14 ^a	2271.2 ^a	19.604 ^a	6888 ^a	1040.46 ^a
Minoodasht	8.48 ^a	0.1808 ^b	3.96 ^b	0.7 ^a	2357.4 ^a	13.123 ^b	2884.88 ^a	553.88 ^a
Taqartappeh	20.8 ^a	0.257 ^b	3.55 ^{cb}	0.17 ^b	2893.67 ^{ba}	21.799 ^{ba}	3869.5 ^a	173.867 ^a
Fazelabad	18.38 ^a	0.289 ^a	9.67 ^a	1.78 ^a	3432 ^a	24.356 ^a	9828.13 ^a	1709.83 ^a
Qolitappeh	11.6 ^b	0.202 ^c	6.57 ^{ba}	0.21 ^b	3196 ^{ba}	14.467 ^c	4966.1 ^a	181.9 ^a
Palangar	6.4 ^c	0.166 ^d	2.23 ^{cb}	1.01 ^{ba}	1798.33 ^{cb}	12.226 ^c	1497.4 ^a	801.768 ^a
Valeshabad	5.05 ^{dc}	0.179 ^{dc}	0.89 ^c	0.00 ^b	1448 ^{cb}	15.046 ^{cb}	685.5 ^a	8.625 ^a
Pichak mahalleh	2.22 ^d	0.168 ^{dc}	3.75 ^{cb}	0.084 ^b	530 ^c	12.479 ^c	2477.8 ^a	36.4 ^a
Field 1	15.22 ^c	0.2144 ^c	12.93 ^b	0.43 ^b	3963 ^{bc}	15.63 ^c	9837.2 ^{cb}	363.8 ^b
Field 2	8 ^d	0.1909 ^{dc}	0.2 ^d	0.00 ^b	2429 ^{cd}	13.303 ^c	95 ^c	0.00 ^b
Field 3	3.6 ^{ed}	0.1488 ^d	2.95 ^{dc}	1.34 ^b	991 ^{de}	10.989 ^c	1506.4 ^{cb}	848.9 ^b
Field 4	7.2 ^d	0.1665 ^{dc}	0.9 ^d	0.02 ^b	1947 ^{de}	12.304 ^c	527.2 ^c	5.7 ^b
Field 5	8.4 ^d	0.1839 ^{dc}	2.84 ^{dc}	1.68 ^b	2457 ^{cd}	13.383 ^c	2458.6 ^{cb}	1551 ^{ba}
Field 6	3.6 ^{ed}	0.1767 ^{dc}	0.28 ^d	0.00 ^b	677 ^{de}	15.531 ^c	321 ^c	0.00 ^b
Field 7	6.4 ^{ed}	0.1814 ^{dc}	1.5 ^d	0.00 ^b	2219 ^{cd}	14.559 ^c	1050 ^{cb}	0.00 ^b
Field 8	4.4 ^{ed}	0.1737 ^{dc}	0.02 ^d	0.00 ^b	765 ^{de}	14.676 ^c	14 ^c	0.00 ^b
Field 9	2 ^{ed}	0.1673 ^{dc}	0.02 ^d	0.00 ^b	277 ^e	14.557 ^c	11.2 ^c	0.00 ^b
Field 10	56 ^a	0.4329 ^a	10.58 ^b	0.53 ^b	7639 ^a	36.16 ^a	11583.3 ^b	521.6 ^b
Field 11	2 ^{ed}	0.1702 ^{dc}	7.74 ^{cb}	0.18 ^b	206 ^e	10.945 ^c	4702.2 ^{cb}	68 ^b
Field 12	2.4 ^{ed}	0.1693 ^{dc}	0.56 ^d	0.02 ^b	854 ^{de}	14.012 ^c	253.4 ^c	4.8 ^b
Field 13	26.25 ^b	0.3539 ^b	29 ^a	5.32 ^a	5065 ^b	28.471 ^b	29482.8 ^a	5129.5 ^a
Field 14	0.4 ^e	0.1579 ^d	0.00 ^d	0.00 ^b	174 ^e	13.071 ^c	1.6 ^c	0.00 ^b
Field 15	28.8 ^b	0.3607 ^b	0.00 ^d	0.00 ^b	5057 ^b	31.523 ^{ba}	0.00 ^c	0.00 ^b
Line 1	12.71 ^a	0.2235 ^a	3.38 ^a	0.06 ^a	2493.33 ^a	17.92 ^a	3035.87 ^a	56.466 ^a
Line 2	9.19 ^b	0.2087 ^a	3.62 ^a	0.37 ^a	2054.33 ^a	16.685 ^a	3137.27 ^a	340.1 ^a
Line 3	12.44 ^{ba}	0.2095 ^a	5.12 ^a	0.43 ^a	2487.33 ^a	16.818 ^a	4315.77 ^a	369.23 ^a
Line 4	11.76 ^{ba}	0.2248 ^a	4.89 ^a	1.74 ^a	2081 ^a	18.12 ^a	4548.1 ^a	491.8 ^a
Line 5	12.61 ^a	0.2155 ^a	6.15 ^a	0.58 ^a	2466.33 ^a	16.828 ^a	5577.63 ^a	1573.5 ^a
Basma	8.48 ^c	0.1808 ^d	3.96 ^b	0.696 ^b	2357.4 ^{ba}	13.124 ^c	2848.9 ^b	553.88 ^{ba}
NC100	13.5 ^b	0.2225 ^c	3.62 ^b	0.14 ^b	1927.6 ^b	17.774 ^{cb}	3310.9 ^b	118.88 ^b
K326	13.88 ^b	0.2587 ^b	14.52 ^a	2.69 ^a	2671 ^{ba}	21.515 ^b	14747 ^a	2564.75 ^a
Burley	5.05 ^d	0.1791 ^d	0.89 ^b	0.00 ^b	1448 ^b	15.046 ^c	685.5 ^b	0.00 ^b
PVH03	28.8 ^a	0.3607 ^a	0.00 ^b	0.00 ^b	5057 ^a	31.524 ^a	0.00 ^b	0.00 ^b
Time ₁	17.2 ^a	0.271 ^a	3.707 ^b	0.329 ^a	-	-	-	-
Time ₂	7.2 ^c	0.177 ^c	7.306 ^a	1.149 ^a	-	-	-	-
Time ₃	10 ^{cb}	0.191 ^c	1.015 ^b	7.77 ^a	-	-	-	-
Time ₄	12.54 ^b	0.226 ^b	8.054 ^a	1.012 ^a	-	-	-	-
Time ₅	11.63 ^b	0.218 ^b	2.64 ^b	0.667 ^a	-	-	-	-

اعداد با حروف مشابه در هر ستون، تفاوت معنی داری در سطح احتمال یک درصد با هم ندارند.

میزان وقوع (DI) و غلظت نسبی PVY (OD_{405nm})، جمعیت شته سبز هلو (*Myzus persicae*) MP و شته قرمز توتون (*Myzus persicae* ssp. *nicotianae*) MPN؛ سطح زیر منحنی پیشرفت وقوع بیماری (AUDIPC)، غلظت نسبی ویروس (AUODPC)، سطح زیر منحنی تغییرات جمعیت شته سبز هلو (AUMPDPC) و قرمز توتون (AUMPNDPC).

Numbers with the same letters in each column do not have denotes a statistically significant difference at the probability level of 1%.

Diseases incidence (DI), PVY relative concentration (OD), population of *Myzus persicae* (MP) and *Myzus persicae* ssp. *nicotianae* (MPN). Area under the disease progress curve DI (AUDIPC), Area under the viral OD changes curve (AUODC), Area under the dynamics of aphid population curve *Myzus persicae* (AUMPDPC) and *Myzus persicae* ssp. *nicotianae* (AUMPNDPC).

جدول ۳- تجزیه‌ی واریانس سطح زیر منحنی وقوع بیماری (AUDIPC)، غلظت نسبی ویروس (AUODPC)، دینامیک جمعیت شته سبز هلو (AUMPDPC) و شته قرمز توتون (AUMPNDPC) در شهرستان‌های مینودشت، علی‌آباد و گرگان در فصل زراعی ۱۳۹۶.

Table 3: Analysis of variance of area under the disease progress curve DI (AUDIPC), Area under the viral OD changes curve (AUODC), Area under the dynamics of aphid population curve *Myzus persicae* (AUMPDPC) and *Myzus persicae* ssp. *nicotianae* (AUMPNDPC) in tobacco in Gorgan, Aliabad and Minoodasht locations during 2017 cultivation season.

	Df	AUDIPC		AUODC		AUMPDPC		AUMPNDPC	
		Mean Square	P-Value	Mean Square	P-Value	Mean Square	P-Value	Mean Square	P-Value
City	2	46450.3	0.99 ^{ns}	324.903	0.00**	143878000	0.2 ^{ns}	5480090	0.41 ^{ns}
Residual	72	5711630		59.134		88943900		6020058	
Region	5	14976600	0.01**	359.986	0.00**	148988000	0.13 ^{ns}	6050000	0.43 ^{ns}
Residual	69	4876040		45.036		86185200		6190600	
Cultivar	4	12543500	0.05*	420.464	0.00**	346666000	0.00**	12439200	0.08*
Residual	70	5159370		46.08		75786400		5823500	
Field	14	24456400	0.00**	312.791	0.00**	313280000	0.00**	8942150	0.1 ^{ns}
Residual	60	1149000		8.806		38430000		5536860	
Line	4	765318	0.8 ^{ns}	7.081	0.98 ^{ns}	16827600	0.94 ^{ns}	5137250	0.51 ^{ns}
Residual	70	583240		69.702		94634300		6240750	
Total	74								

**, * و ns به ترتیب به مفهوم معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۱ درصد، ۵ درصد و غیر معنی‌دار بودن می‌باشند.

**, *, denotes a statistically significant difference at the probability level of 1%, 5% and ns: non-meaningful, respectively

بحث

و بارلی ۲۱، کوکر ۳۴۷ و باسما ۱۷۸-۲) در شرایط طبیعی (مزرعه‌ای) وقوع آلودگی‌های ویروسی نشان داده که علائم موزاییک (روشنی رگبرگ، رگبرگ‌نواری و نقوش کلروتیک) در اغلب ارقام مشاهده ولی علائم بافت‌مرده فقط در شش رقم (شامل K326) مشاهده شده بود (Hosseini et al., 2016). که با نتایج واکنش متفاوت پنج رقم مورد بررسی (نوع و فراوانی علائم) در تحقیق حاضر به PVY مشابهت دارد. در ارقام مختلف سیب‌زمینی، تغییرات هورمون‌های جاسمونیک اسید (JA)، سالیسیلیک اسید (SA)، سیتوکینین‌ها و پیش‌سازها و مشتقات آنها در طول دوره آلودگی به PVY، نقش بسیار مهمی در ایجاد طیف وسیعی از علائم موضعی و سیستمیک بیماری PVY داشته است (Milavec et al., 2001a, b, 2008; Kovač et al., 2009 and Lacomme et al., 2017). احتمال می‌رود در توتون نیز تغییر مقادیر هورمونی یکی از عوامل مهم تغییر شدت علائم PVY در ارقام مختلف باشد که نیاز به بررسی دارد.

در این تحقیق شاخص‌های مهم بیماری پنج رقم متداول توتون به PVY به همراه جمعیت دو شته ناقل در پنج بازه زمانی و در مقیاس‌های مختلف مکانی (شهرستان، منطقه، مزرعه و ردیف) ارزیابی شد. از نظر علائم بیماری در بوته‌های مورد ارزیابی، ۵۰/۳ درصد بوته‌ها دارای علائم موزاییک و رگبرگ‌روشنی و فقط ۴/۳۸ درصد از بوته‌های مورد ارزیابی دارای علائم بافت‌مرده بودند. فراوانی علائم بافت‌مرده در بین ارقام توتون متفاوت بود به طوری که بیشینه (۴۵/۴۵ درصد) و کمینه (۹/۰۹ درصد) علائم بافت‌مرده به ترتیب مربوط به ارقام NC100 و بارلی بوده و در رقم باسما علائم بافت‌مردگی مشاهده نگردید. بررسی واکنش ۲۳ رقم مختلف توتون (PBD6, TN86, VAM, Wislica, Habana92, AOB857), AOB656, HBT8, HBT19, VTA, VRG2, K326, NC95, VD Totem203, TDH11, TDH06, TDH03, DVH2101, AOV405

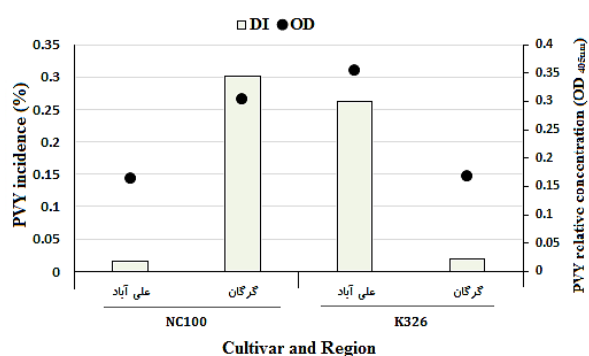
در این تحقیق در بین ارقام مورد ارزیابی، رقم PVH03 دارای بیشترین مقادیر AUDPC و AUODC بود. شرایط محیطی نقش بسیار مهمی در فنولوژی ناقلین به ویژه ویروس-های دارای ناقل شته‌ای نظیر PVY دارد. این تعاملات چندگانه میزبان، ویروس، ناقل و شرایط محیطی بسیار پیچیده بوده و بر میزان شیوع بیماری و AUDPC اثر دارد (Woolhouse and Gowtage-Sequeria, 2005; Barrett et al., 2008 and Engering et al., 2013 and Lacomme 2017). احتمال می‌رود در گیاهان توتون نیز این تعاملات چندگانه سبب تغییر شیوع PVY در ارقام و مناطق مختلف باشد. در بین جمعیت‌های گیاهی با سطح مدیریت انسانی متفاوت، اثر عوامل اکولوژیکی نیز متفاوت بوده و این تفاوت بر میزان شیوع بیماری ویروسی بسیار مؤثر می‌باشد. با توجه به اثر مستقیم تراکم بوته میزبان (در واحد سطح) و خطر شیوع بیماری (Pagan et al., 2012)، بر خلاف کشت متراکم رقم باسما نسبت به ارقام تیپ‌غربی، شیوع ویروس در باسما کمتر از ارقام بارلی و ویرجینیا بود.

بین دو منطقه قلی‌تپه و پلنگر از شهرستان مینودشت (با ژنوتیپ توتون و تاریخ کاشت مشابه) تفاوت معنی‌داری در شاخص‌های DI و OD، MPN و MP مشاهده گردید. در هر دو منطقه رقم باسما به صورت دیم کشت می‌شود. احتمال می‌رود این تفاوت مربوط به موقعیت جغرافیایی مناطق باشد، به طوری که منطقه پلنگر در دامنه کوه و بین مناطق جنگلی و با جمعیت شته سبز هلو کمتری واقع شده در حالی که منطقه قلی‌تپه با ارتفاع از سطح دریا کمتری نسبت به پلنگر، در منطقه جنگلی واقع نبوده و دارای جمعیت شته سبز هلو بیشتری می‌باشد. احتمال می‌رود تفاوت معنی‌دار وقوع بیماری و غلظت PVY بین این دو منطقه در ارتباط با پوشش گیاهی (به خصوص علف‌های هرز به عنوان منابع زادمایه بیماری) و همچنین جمعیت و سطح فعالیت شته‌های ناقل ویروس باشد. در تایید این مطالب و براساس نتایج این تحقیق، ارتباط معکوس بین ارتفاع از سطح دریا و جمعیت شته با وقوع بیماری مشاهده شد. بطور مثال بین پنج مزرعه این شهرستان

در تحقیق حاضر بین شاخص‌های مورد بررسی بیماری، فقط غلظت نسبی ویروس و AUODC تفاوت معنی‌داری بین سه شهرستان داشت به طوری که در علی‌آباد و گرگان با اختلاف معنی‌داری بیشتر از مینودشت بود. این تفاوت می‌تواند ناشی از عوامل متعددی مانند شرایط آب و هوایی شهرستان‌ها، ژنوتیپ میزبان و مرحله رشدی توتون در زمان بررسی باشد. در این خصوص می‌توان به وجود ارتباط معنی‌دار بین شاخص OD با عامل دما ($r = -0.91$ و $P = 0.03$)، رطوبت نسبی ($r = 0.68$ و $P = 0.03$) و بارندگی ($r = 0.82$ و $P = 0.09$) و شاخص DI با عامل دما ($r = -0.93$ و $P = 0.02$)، رطوبت نسبی ($r = 0.70$ و $P = 0.04$) و بارندگی ($r = 0.98$ و $P = 0.004$) (شریفی و همکاران، منتشر نشده) و تفاوت آب و هوای معتدل و مرطوب مدیترانه‌ای شهرستان‌های علی‌آباد و گرگان با آب و هوای خشک و نیمه خشک مینودشت اشاره نمود. تفاوت معنی‌دار غلظت نسبی ویروس بین ارقام مختلف در این تحقیق و بیشتر بودن معنی‌دار آن در ارقام ویرجینیا (تیپ غربی و کشت غالب در علی‌آباد و گرگان) نسبت به رقم باسما (تیپ شرقی و کشت غالب مینودشت) در تایید این امر می‌باشد. همچنین مرحله رشدی رقم باسما (تیپ شرقی و کشت غالب مینودشت) با ارقام ویرجینیا (تیپ غربی و کشت غالب در علی‌آباد و گرگان) در زمان‌های نمونه‌برداری متفاوت بود. به این شرح که با توجه به کشت توتون در مینودشت در ماه‌های فروردین و اردیبهشت در مقایسه با علی‌آباد و گرگان در خرداد و تیر ماه، نمونه‌های جمع‌آوری شده از مینودشت سن رشدی بالاتری نسبت به نمونه‌های جمع‌آوری شده از علی‌آباد و گرگان داشت. لذا با توجه به بالا بودن DI و غلظت نسبی PVY (با اختلاف معنی‌دار) در زمان t1 نسبت به t2- t5، نقش مرحله رشدی نمونه‌های مورد بررسی از شهرستان‌های مختلف آشکار می‌گردد. حساسیت بیشتر گیاهان به ویروس-های گیاهی در سنین رشدی پایین نسبت به سنین بالاتر قبلاً نیز گزارش شده است.

در این تحقیق جمعیت شته سبز هلو و قرمز توتون در مزارع توتون مورد پایش قرار گرفت و مشخص شد که جمعیت هر دو شته در رقم K326 نسبت به سایر ارقام توتون با اختلاف معنی‌داری بیشتر می‌باشد. در ارقام مختلف گیاهی غلظت مواد محلول شیره‌ای گیاه میزبان متفاوت بوده و در جذب شته‌ها و رفتار تغذیه‌ای آنها بسیار مؤثر می‌باشد. لذا افزایش جمعیت ناقل با توجه به شرایط محیطی و اثر آن، در آنها به سرعت اتفاق می‌افتد که در افزایش شیوع بیماری مؤثر می‌باشد (Kone, et al., 2017). بین میزان وقوع بیماری و جمعیت شته سبز هلو و قرمز توتون همبستگی ارزیابی شده است که نشان دهنده اهمیت مطالعه دقیق‌تر نقش شته‌ها در وقوع بیماری در استان می‌باشد. مقدار بیشینه و کمینه جمعیت هر دو شته در شهرستان‌های مختلف در طول فصل زراعی متفاوت بود. در شهرستان گرگان در میانگین دمای ۲۶/۴ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۶۶/۸ درصد کمترین جمعیت هر دو شته در مزارع بوده و با افزایش دما به ۳۱/۱۸ درجه سلسیوس و کاهش رطوبت نسبی به ۶۰/۸ درصد جمعیت افزایش یافته و در میانگین دمای ۲۹/۲۶ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵۶/۴ درصد بیشترین جمعیت هر دو شته مشاهده شد. با کاهش دما به ۱۷/۲۲ سانتی‌گراد و افزایش رطوبت نسبی به ۷۵/۴ درصد جمعیت کاهش یافت. در شهرستان علی‌آباد نیز در میانگین دمای ۲۹/۸۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵۵ درصد کمترین جمعیت هر دو شته در مزارع بوده و با کاهش دما و افزایش رطوبت نسبی جمعیت کاهش یافت. در شهرستان مینودشت بیشترین جمعیت هر دو شته در مزارع مربوط به تیر ماه بود. با بررسی میانگین دما، رطوبت نسبی، میزان بارندگی و تعداد روزهای بارانی مشخص شد که در میانگین دمای ۲۹/۶ تا ۳۱/۴ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۴۱/۸-۴۶/۴ درصد بیشترین جمعیت هر دو شته در مزارع بوده و کاهش دما به ۲۸/۶۲ درجه و افزایش رطوبت نسبی به ۵۵ درصد جمعیت هر دو

مینودشت، مزرعه شماره یک با کمترین ارتفاع از سطح دریا (و بیشترین فاصله از جنگل) و بیشترین جمعیت شته سبز هلو، بطور معنی‌داری وقوع بیماری بیشتری نسبت به چهار مزرعه دیگر داشت. در شهرستان گرگان بین دو منطقه تقریباً (ارقام K326 و NC100) و والش‌آباد (ارقام بارلی) شاخص‌های DI و OD و جمعیت MP و در علی‌آباد بین دو منطقه فاضل‌آباد (ارقام PVH03، K326 و NC100) و پیچک‌محل (NC100) تمام شاخص‌های مورد ارزیابی دارای تفاوت معنی‌داری بودند که تفاوت در ژنوتیپ میزبان می‌تواند مهمترین عامل این تفاوت‌ها باشد. تنوع ژنوتیپ گیاه میزبان سبب تغییر ریز محیط (Zhu et al., 2005) و رفتار حشره ناقل (Powell, 1991) می‌شود. با توجه به وجود اختلاف معنی‌دار بین رقم NC100 با ارقام PVH03 و K326 (رقم حساس به PVY) در تمام شاخص‌های ارزیابی شده ($P=0.00$)، ژنوتیپ میزبان می‌تواند یکی از عوامل مؤثر در همه‌گیری این بیماری مطرح باشد. از آنجا که تمامی ارقام تجاری توتون مورد کشت در ایران از جمله ارقام گرمخانه‌ای کوکر ۳۴۷ و K326 به PVY حساس می‌باشند (Khateri et al., 2015) و با توجه به این که در بین ارقام گرمخانه‌ای، رقم K326 به PVY بسیار حساس ارزیابی شده (Khateri et al., 2015)، براساس تحلیل آماری داده‌های رقم NC100 با رقم K326 بدون اثر منطقه کشت در این بررسی، مشخص گردید که بین این دو رقم از نظر میزان غلظت نسبی ویروس تفاوت معنی‌داری وجود دارد در حالی که از نظر وقوع بیماری تفاوت معنی‌داری نمی‌باشد. از طرفی بر اساس تحلیل آماری داده‌های مربوط به دو رقم NC100 و K326 در مناطق مختلف کشت توتون (شهرستان گرگان و علی‌آباد) در شرایط آلودگی طبیعی به PVY، علاوه بر OD، میزان DI نیز برای این ارقام بین دو شهرستان تفاوت معنی‌داری ($P=0.00$) داشت (شکل ۴) که نشان دهنده تأثیر عوامل محیطی و نقش مدیریت انسانی علاوه بر ژنوتیپ میزبان در وقوع بیماری است.



شکل ۴- مقایسه میانگین وقوع بیماری (DI) و غلظت (OD_{405nm}) PVY در ارقام NC100 و K326 در مزارع توتون شهرستان علی‌آباد و گرگان. در فصل زراعی ۱۳۹۶.

Fig. 4. Average values comparison of diseases incidence (DI) and PVY relative concentration (OD_{405nm}) in NC100 and K326 cultivars in tobacco fields of Ali abad and Gorgan during 2017 cultivation season.

References

- AGHAJANI, M. A. 2008. Epidemiologies of Sclerotinia stem rot of Canola in Golestan province. Ph. D. Thesis, Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.
- BARRETT, L. G., P. H. THRALL., J. J. BURDON. and C. C. LINDE, 2008. Life history determines genetic structure and evolutionary potential of host-parasite interactions. *Trends in Ecology & Evolution*, 23 (12), 678-685.
- CARDOSO, J. E., A. A. SANTOS, A. G. ROSSETTI and J. C. VIDAL, 2004. Relationship between incidence and severity of cashew gummosis in semiarid north-eastern Brazil. *Plant Pathology*, 53: 363-367.
- CAMPBELL, C. L. and L. V. MADDEN, 1990. Introduction to plant disease epidemiology. John Wiley, New York, 532 pp.
- CHEN, X. M., J. LIU, L. XU, F. JIANG, X. Y. XIE, C. X. ZHU and F. J. WEN, 2010. Inhibiting virus infection by RNA interference of the eight functional genes of the *Potato Virus Y* genome. *Journal of Phytopathology*, 158 (12): 776-784.

شته کاهش یافت. با توجه به اهمیت تعامل بین میزبان شرایط محیطی و اکولوژی بیماری در ایجاد الگوهای جدید انتشار (Engering *et al.*, 2013)، مشخص شدن تغییرات فصلی دقیق جمعیت شته‌های ناقل می‌تواند راهکار مناسبی برای مدیریت و کنترل این حشرات ارائه نماید تا علاوه بر کنترل جمعیت حشره و کاهش مصرف حشره‌کش‌ها که آلاینده‌های زیست محیطی هستند با کاهش میزان وقوع بیماری، کیفیت محصول صنعتی تولیدی نیز افزایش یابد.

- CHIKH-ALI, M., S. M. GRAY, and A. V. KARASEV, 2013. An improved multiplex IC-RT-PCR assay distinguishes nine strains of *Potato virus Y*. *Plant Diseases*, 97:1370-1374.
- CLARK, M. F., and A. N. ADAMS, 1977. Characteristics of the microplate method of Enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology*, 34: 475-483.
- COOKE, B. M. 2006. Disease assessment and yield loss. Pages 43-80 in: *The Epidemiology of Plant Diseases*, B. M. COOKE, D. G. JONES and B. KAYE, eds. Springer, Netherlands.
- CORESTA Guide, 2009. A Scale for Coding Growth Stages in Tobacco Crops in: *Growth Stages of Mono- and Dicotyledonous- Plants*, BBCH Monograph, 2nd edition, 2001, (Eds.) U, MEIER, Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry (nd www.bba.de/veroeff/bbch/bbcheng.pdf)
- ENGERING, A., L. HOGERWERF and J. SLINGENBERGH, 2013. Pathogen-host-environment interplay and disease emergence. *Emerging Microbes & Infections*, 2 (2), e5.
- HOSSEINZADEH FASHALMI, N., A. MAHDAVI., A. GHOLIZADEH and H. KHATERI, 2012. Study on the compatibility and survival of the Flue-cured

- tobacco cultivars in Golestan and Mazandaran provinces, The 12th Iranian Congress of Genetics, Tehran, Iran.
- HOSSEINI, A., SAJJADI, A and MAHDAVI, A. R. 2016. Evaluation the reaction of breded male sterile air-cured tobacco hybrids to Potato virus Y and cucumber mosaic virus. Proceeding of the 22nd Iranian Plant Protection Congress, College of Agricultural and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, IRAN, 17 p.
- KERLAN, C. 2006. *Potato virus Y*. Descriptions of plant viruses, no. 414. (<http://www.dpvweb.net/dpv/showdpv.php?dpvno=414>)
- KHATERI, H. 2015. Generation of PVY-resistant transgenic tobacco plants with using RNA-mediated gene silencing. Ph. D. Thesis, Department of Plant Pathology, Faculty of Agricultural and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, IRAN.
- KIRCHNER S. M., L HILTUNEN, T. F. DORING, E. VIRTANEN, J. P. PALOHUHTA and J. P. T. VALKONEN, 2013. Seasonal phenology and species composition of the aphid fauna in a northern crop production area. PLoS One, 8 :e71030
- KIRCHNER S. M., L. HILTUNEN, J. SANTALA, T. F. DORING, J. KETOLA, A. KANKAALA, E. VIRTANEN, and J. P. T. VALKONEN, 2014. Comparison of straw mulch, insecticides, mineral oil, and birch extract for control of transmission of *Potato virus Y* in seed potato crops. Potato Research, 57:59–75.
- KOVAC, M., A. MULLER., J. D. MILOVANOVIC., M. MILAVEC., P. DUCHTING and M. RAVNIKAR, 2009. Multiple hormone analysis indicates involvement of jasmonate signalling in the early defence of potato to *potato virus Y*^{NTN}. *Biologia Plantarum*, 53:195–199.
- LACROIX, C., L. GLAIS, C. KERLAN, J. L. VERRIER and E. JACQUOT, 2010. Biological characterization of French *Potato virus Y* (PVY) isolates collected from PVY-susceptible or -resistant tobacco plants possessing the recessive resistance gene *va*. *Plant Pathology Journal*, 59 (6): 1133-1143.
- LACOMME, C., J. PICKUP., A. FOX., L. GLAIS., B. DUPUIS., T. STEINGER., J. L. ROLOT., J. P. T. VALKONEN., K. KRUGER., X. NIE., S. MODIC., N. MEHLE., M. RAVINKAR and M. HULLE, 2017. Transmission and Epidemiology of *Potato virus Y*. In: *Potato virus Y: biodiversity, pathogenicity, epidemiology and management* (Eds.) C. LACOMME., L. GLAIS., D. U. BELLSTED., B. DUPUIS., A. V. KARASEV and E. JACQUOT. Published by Springer Nature. pp 141–176.
- MILAVEC, M., M. RAVNIKAR and M. KOVAC, 2001a. Peroxidases and photosynthetic pigments in susceptible potato infected with *Potato virus Y*^{NTN}. *Plant Physiology and Biochemistry*, 39:891–898.
- MILAVEC, M., M. RAVNIKAR and M. KOVAC, 2001b. Peroxidases in the early response of potato (*Solanum tuberosum* L. cv. Igor) susceptible to *Potato virus Y*^{NTN}. *Acta Biologica Slovenica*, 44:3–11.
- MILAVEC, M., K. GRUDEN., M. RAVNIKAR and M. KOVAC, 2008. Peroxidases in the early responses of different potato cultivars to infection by *Potato virus Y*^{NTN}. *Plant Pathology*, 57:861–869.
- NANAYAKKARA, U. N., M. SINGH, Y. PELLETTIER and X. NIE, 2012. Investigation of *Potato virus Y* (PVY) Strain Status and Variant Population in Potatoes in New Brunswick, Canada. *American Journal of Potato Research*, 89: 232–239.
- PAGAN, I., P. GONZALEZ-JARA., A. MORENO-LETELIER., M. RODELO-URREGO., A. FRAILE., D. PINERO, 2012. Effect of biodiversity changes in disease risk: exploring disease emergence in a plant-virus system. *PLOS Pathogens*, 8:e1002796.
- POLHEMUS, N. W, 1980. Interactive statistical graphics: system design criteria with an implementation in APL. *Proceedings of the Statistical Computing Section, American Statistical Association*, 391-396.
- POWELL, G, 1991. Cell membrane punctures during epidermal penetrations by aphids: consequences for the transmission of two potyviruses. *Annals of Applied Biology*, 119 (2): 313-321.
- ROBERT, Y. and D. BOURDIN, 2001. Aphid transmission of potato viruses. In: *Virus and virus-like diseases of*

- potatoes and production of seed-potatoes (Eds.) G. LOEBENSTEIN, P. H. BERGER, A. A. BRUNT and R. H. LAWSON, Doordrecht: Kluwer. pp. 195–225.
- RUESINK, W. G. and M. E. IRWIN, 1986. *Soybean mosaic virus* epidemiology: a model and some implications. In: Plant virus epidemics: monitoring, modeling and predicting outbreaks (Eds.) G. MCLEAN., R. GARRETT and W. RUESINK, Academic Press, Sydney, Australia, pp. 295–313.
- SCHOLTHOF, K. B., S. ADKINS, H. CZOSNEK, P. PALUKAITIS, E. JACQUOT, T. HOHN, B. HOHN, K. SAUNDERS, T. CANDRESSE, P. AHLQUIST, C. Hemenway and G. FOSTER, 2011. Top 10 plant viruses in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 12, 938–954.
- SINGH, R. P., J. P. T. VALKONEN, S. M. GRAY, N. BOONHAM, R. A. C. JONES, C. KERLAN and J. SCHUBERT, 2008. Discussion paper: The naming of *Potato virus Y* strains infecting potato. *Archives of Virology*, 153: 1–13.
- STEINGER, T., H. GILLIAND and T. HEBEISEN, 2014. Epidemiological analysis of risk factors for the spread of potato viruses in Switzerland. *Annals of Applied Biology*, 164: 200–207.
- TIAN, Y. P., J. L. LIU, C. L. ZHANG, Y. Y. LIU, B. WANG, X.-D. LI, Z. K. GUO, and J. P. T. VALKONEN, 2011. Genetic diversity of *Potato virus Y* infecting tobacco crops in China. *Phytopathology*. 101: 377-387.
- TSEDALEY, B. 2015. A Review Paper on *Potato Virus Y* (PVY) Biology, Economic Importance and its Managements. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, 5 (9): 110-126.
- WOOLHOUSE, M. E. J., S. GOWTAGE-SEQUERIA, 2005. Host range and emerging and reemerging pathogens. *Emerging Infectious Diseases*, 11, 1842–1847.
- ZHU, Y. Y., H. FANG., Y. Y. WANG., J. X. FAN and S. S. YANG, 2005. Panicle and canopy moisture in rice cultivar mixtures. *Phytopathology*, 95: 433–438.
- TSEDALEY, B. 2015. A Review Paper on *Potato Virus Y* (PVY) Biology, Economic Importance