

مقاومت سیتوزنتیکی شته سبز هلو *Myzus persicae* (Sulzer) نسبت به سم فسفره (دیازینون) در ایران

پریچهر احمدیان تهرانی، محمدجواد مراداسحق و سیدحسن حجت

بترتیب دانشیارگروه زراعت و اصلاح نباتات، استادفقیدگروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران

و استاد گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز

تاریخ وصول شانزسم بهمن ماه ۱۳۷۰

چکیده

جمعیت‌های هتروزیگوس شته سبز هلو برای ترانسلوکی شن^۱ بین اتوزومهای ۱ و ۳ اولین بار در شته های گلخانه‌ای در کشور انگلستان کشف شد.

عدم تاثیر سم فسفره روی برخی از جمعیت‌های سبز هلو در گلخانه های دانشکده کشاورزی کرج در سال ۱۳۵۵ ملاحظه شد. بررسی سیتولوژیک جهت تعیین ترانسلوکی شن کروموزومها در شته های سبز هلو در ایران و تأیید ارتباط آن با مقاومت نسبت به سم فسفره در سال ۱۳۶۰ انجام گرفت.

کلن‌های پرورش یافته از نژاد گلخانه‌ای و همچنین از ماده های بکرزا مورد استفاده قرار گرفتند. مقاومت شته ها در برابر غلظت‌های ۵ ppm و ۱ ppm از دیازینون با چهار تکرار بررسی شد. شته های زنده زای سن ۴ در فیکساتیو^۲ تشریح و از جنین‌های کوچک اسلاید تهیه شد و در میکروسکوپ افتراقی^۳ مطالعه گردیدند. کلن‌هایی که در مقابل سمم به درجات مختلف مقاومت نشان داده بودند در اتوزومهای ۱ و ۳ ترانسلوکی شن داشتند.

مقدمه

سیتوزنتیک قابل توجه است و در نتیجه به حشرات

دیگر کمتر توجه شده است.

۲- توسعه مطالعات ژنتیکی حشرات بیشتر متوجه گروه‌هایی است که اهمیت پزشکی دارند نه کشاورزی و این قبیل مسائل بیشتر در موسسات پزشکی مجبور بررسی قرار می‌گیرند.

۳- گروه‌هایی از حشرات که اهمیت کشاورزی دارند

اغلب با مشکلات پرورش در آزمایشگاه و روش‌های

آماده سازی نمونه ها برای مشاهده کروموزومی

همراه هستند (۳).

با توجه به اهمیت اقتصادی شته ها و نقش آنها

در انتقال بیماری‌های ویروسی (۶) معیذا این حشره

از نظر مطالعات ژنتیکی نادیده شمرده شده است. در

حقیقت در مورد حشرات که از لحاظ کشاورزی اهمیت

دارند يك كمبود اطلاعات ژنتیکی و سیتوزنتیکی

مشهود است. این كمبود می‌تواند معلول چند علت

باشد:

۱- تحقیقات بیشتر روی مگس سرکه (دروزوفیلا) انجام

می‌شود که هم جنبه کلاسیک دارد و هم از نظر

1- Translocation

2- Fixative

3- Phasecontrast

هلو پی برد. در سال ۱۳۵۷ نمونه هائی از ایسن شته‌ها و شته هائی از مزارع اطراف کرج را در فیکساتیو قرار داده و برای مطالعات ژنتیکی به موزه تاریخ طبیعی بریتانیا ارسال نمود. نمونه های مذکور توسط بلکمن مورد بررسی قرار گرفت، وی در کروموزومهای چندین نمونه جمع آوری شده از گلخانه ها، حالت ترانسلوکی-شن تشخیص داد، در صورتی که در تعدادی از نمونه هائی که از مزارع اطراف کرج جمع آوری شده بود هیچگونه ترانسلوکی شن در اتوزومهایشان مشاهده نکرد. مقاومت شته سبز هلو نسبت به شته کشها نیز توسط بن مزون مشاهده شده است (۵).

بررسیها در سال ۱۳۶۰ در قالب طرح مشخصی با کمک جهاد دانشگاهی پیگیری شد. این بررسی برای اولین بار در ایران انجام گرفت و فقط از سم دیازینون برای آزمایش استفاده شد.

طرح مذکور شامل بخشهای زیر بود:

- ۱- شناسائی شته ها و میزبانهای مختلف آنها (نتیجه در مجله علوم کشاورزی اهواز منتشر شد).
- ۲- جمع آوری کلونها و پرورش آنها در گلخانه تحت شرایط کنترل شده.
- ۳- تاثیر سم فسفره و مطالعه توکسیکولوژیک.
- ۴- بررسی سیتولوژیک و سیتوژنتیک و تشخیص شته های مقاوم از طریق کاریوتیپ آنها.

مواد و روشها

- ۱- گونه *Myzus persicae* Sulz. از روی ۲۵ گونه گیاه متعلق به بیش از ۲۰ خانواده جمع آوری و شناسائی شدند. میزبانها نیز از نظر گیاهشناسی در گروه باغبانی دانشکده تشخیص داده شدند.
- ۲- کلنهای جمع آوری شده از روی گیاهان میزبان، تحت

با برطرف کردن برخی از مشکلات مذکور، مشخص شده است که شته ها نیز برای کارهای ژنتیکی و سیتوژنتیکی دارای امتیازاتی هستند:

- ۱- محدودیتی در تخمهای حاصل از یک تلقیح وجود ندارد یعنی می توان به یک اندازه شته تخم گذار و شته نر از یک کلن بدست آورد.
- ۲- ژنوتیپ والدین از طریق بکرزائی در شرایط مناسب می تواند برای یک زمان معین ثابت بماند و انجام آزمایش برگشتی را ساده نماید.
- ۳- هر ژنوتیپ می تواند به عنوان یک کلن ثابت بماند و امکان مطالعات وراثتی صفات را بدهد. با تشریح شته های بی بال یا بکرزای بی بال از سن اول تا بالغ جوان می توان کاریوتیپ آنها را مشاهده کرد. ولی وضعیتهای مهم رفتاری کروموزومها هنوز ناشناخته های بسیار دارد (مراحل رسیدن در تخم، بکرزائی، طرز تشخیص جنسیت، رفتار کروموزومها طی میوز نر و ماده) (۳).

یکی از موارد استفاده سیتوژنتیک شته ها تشخیص شته های مقاوم نسبت به سموم فسفره است. بلکمن و تاکادا (۴) اشاره می کنند که جمعیتهای هتروزیگوس شته سبز هلو در مورد ترانسلوکی شن بین اتوزومهای ۱ و ۳ اولین بار در شته های گلخانه ای در کشور انگلستان مشاهده شد. در جمعیتهای مرعه ای در بسیاری از نقاط دنیا نیز ترانسلوکی شن مشابه اتفاق افتاده است. که علامت مقاوم شدن شته ها نسبت به سموم فسفره است.

مراداسحقى (۱) در سال ۱۳۵۵ ضمن سمپاشیهای مکرر گلخانه های دانشکده کشاورزی در کرج به عدم تاثیر سموم مصرفی فسفره از قبیل مالاتیون، متاسیستوکس، گوزاتیون و دیازینون بر روی شته سبز

3N در اتو ۶۵ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه قرار داده سپس صافی به ظرف آب مقطر منتقل کردید. در این حالت جنینها روی سطح آب شناور می‌شوند. آنها را برداشته در يك قطره اسید پروپیونیک ۰۴۵٪ روی يك لام بسیار تمیز قرارداداده پس از گذاردن يك لام تمیز بر روی آن با فشار شصت جنینها بین لام و لام له شده و برای مطالعه میکروسکپی آماده کردیدند.

تعدادی از نمونه ها به این روش تهیه شدند ولی چون این روش بسیار مشکل و وقت گیر بود لذا از روش تعدیل شده ر شته های تثبیت نشده استفاده گردید و شته های زنده سن چهار ابتدا در پتاسیم کلراید ۷۵ درصد تشریح و کوچکترین جنینها به مدت ۱۵ دقیقه تا يك ساعت در فیکساتیو تازه قرار داده شدند. در مواردی که بیرون آوردن جنینها مشکل بود جنینهای جوان همراه با بدن شته به فیکساتیو منتقل می‌کردید. جنینها داخل يك قطره اسید پروپیونیک ۰۴۵٪ روی لام بسیار تمیز قرار داده شدند و لام بسیار تمیزی روی آنها گذارده با روش له کردن برای مشاهده میکروسکپی آماده شدند. مشاهده و مطالعه بوسیله میکروسکپ افتراقی^۱ انجام گرفت.

لامهائی که دارای سلولهای در حال تقسیم و قابل بررسی کاریوتیپ بودند بوسیله گاز CO₂ منجمد و لام و لام را از هم جدا نموده و در الکل شستشو داده و به مدت ۱-۲ هفته در جای سربسته نگهداری کردیدند. پس از این مدت لام حاوی نمونه در بافر فسفات با pH = ۶/۸ شستشو و در محلول گیمزا^۲ رنگ آمیزی شده و پس از افزودن يك قطره صمغ کانادا بالزام بر روی نمونه يك لام تمیز بر روی آن گذارده و آن را در محل سطحی برای چند روز نگهداشته تا لام دائمی شود.

شرایط کنترل شده در گلخانه روی گیاه داتوره، توتون، بادنجان و فلفل پرورش داده شدند. نتایج حاصل از کلنهای پرورش یافته برای مطالعات توکسیکولوژیک و سیتوزنتیک مورد استفاده قرار گرفتند.

۳- در زمینه مطالعه توکسیکولوژیک شته های پرورش یافته در گلخانه با غلظتهای مختلف دیازینون آلوده شده و مورد بررسی قرار گرفتند. در این آزمایش سم دیازینون ۰۴۰٪ از آزمایشگاه سم شناسی دانشکده کشاورزی استفاده شد. کلن A روی داتوره و کلن B روی بادنجان در چهار تکرار و در نوبت همراه با شاهد انجام شد. برای هر تکرار تعداد ۲۰ شته در شیشه های مخصوصی قرارداداده شد و با دیازینون به غلظت ۱ pmm آلوده شدند.

۴- در زمینه مطالعه سیتوزنتیک که در ایران برای اولین بار صورت می‌گرفت، شته های بارور از کلنهای شاهد و آلوده به سم انتخاب و مورد مطالعه قرار گرفتند.

طبق روش بلکمن (۲) پوره های شته های بکرزای سن چهار به مدت ۲-۴ ساعت (تا چند ماه) در فیکساتیو (مخلوطی از يك قسمت اسید استیک خالص و سه قسمت متانول) قرارداداده شدند. برای تشریح، يك شته را در فیکساتیو تازه گذارده ناحیه شکم آن را شکاف داده تخمدان آن را تا حد امکان سالم بیرون کشیده، جنینهای کوچک را از شته جدا کرده با پیپت بسیار نازک برداشته داخل صافی بسیار کوچک انگشتانهای مخصوص در فیکساتیو تازه قرارداداده سپس صافی را برداشته داخل ظرف حاوی متانول ۰۷۵٪ به مدت ۵ دقیقه گذارده بعد صافی را به ظرف محتوی اسید کلریدریک

نتایج و بحث

میزان درصدهای تلفات، چهار ساعت پس از آلوده شدن شته ها با دیازینون به غلظت ۱ ppm تعیین شد (جدول ۱). شاهد در هیچیک از آزمایشات تلفات نداشت. شته های جمع آوری شده از روی هلو که شته مؤسس بودند در بررسیهای کروموزومی ترانسلوکی شن نداشتند ولی شته های بکرزا که روی داتوره و بادنجان پرورش یافتند مقاومت نشان دادند.

نظر به اینکه جمعیت شته سبز هلو بکرزا مخلوطی از جمعیت های مقاوم و حساس به سم فسفره می باشد، بایستی مشخص می شد که چند درصد از آنها ترانسلوکی شن دارند. لذا بررسی وجود یا عدم وجود ترانسلوکی شن روی تعدادی از شته ها انجام شد.

شته هایی که از روی هلو جمع آوری شده بودند ۵ برابر حساس تر از شته هایی بودند که از روی داتوره و بادنجان جمع آوری شده بودند.

واریاسیونی بین آنها وجود داشت، یعنی نتیجه حاصله بین داتوره و بادنجان یکسان نبود. البته بعلت نداشتن گلخانه جهت پرورش کلن های خالص شته، متأسفانه آزمایش سم و تعیین درصد تلفات شته های حساس به نحو مطلوب امکان پذیر نبود، مع هذا با همین امکانات ناقص در برخی کلن ها فاکتور مقاومت

حتی از ۱ درصد هم بیشتر بود.

مشاهدات میکروسکپی روی شته های مورد مطالعه نشان داد که هر دو حالت کروموزومی در بین آنها وجود دارد. یکی وضعیت طبیعی با ۱۲ کروموزوم (شکل ۱) که ۵ جفت اتوزوم و یک جفت کروموزوم جنسی (X) می باشد. دیگری حالت ترانسلوکی شن که به علت شکسته شدن یکی از اتوزومها و چسبیدن آن به اتوزوم دیگر بوجود آمده است در نتیجه یکی از اتوزومها از حالت طبیعی طولتر و همولوگ آن از حالت طبیعی کوتاهتر است (شکل ۲). و با آنچه که توسط بلکمن (۲) مشاهده شده بود مطابقت دارد. شته هایی که دارای کروموزومهای طبیعی بودند نسبت به سم حساس بودند و اغلب شته هایی که از گلخانه انتخاب شده بودند ترانسلوکی- شن داشتند و مقاومت نشان دادند.

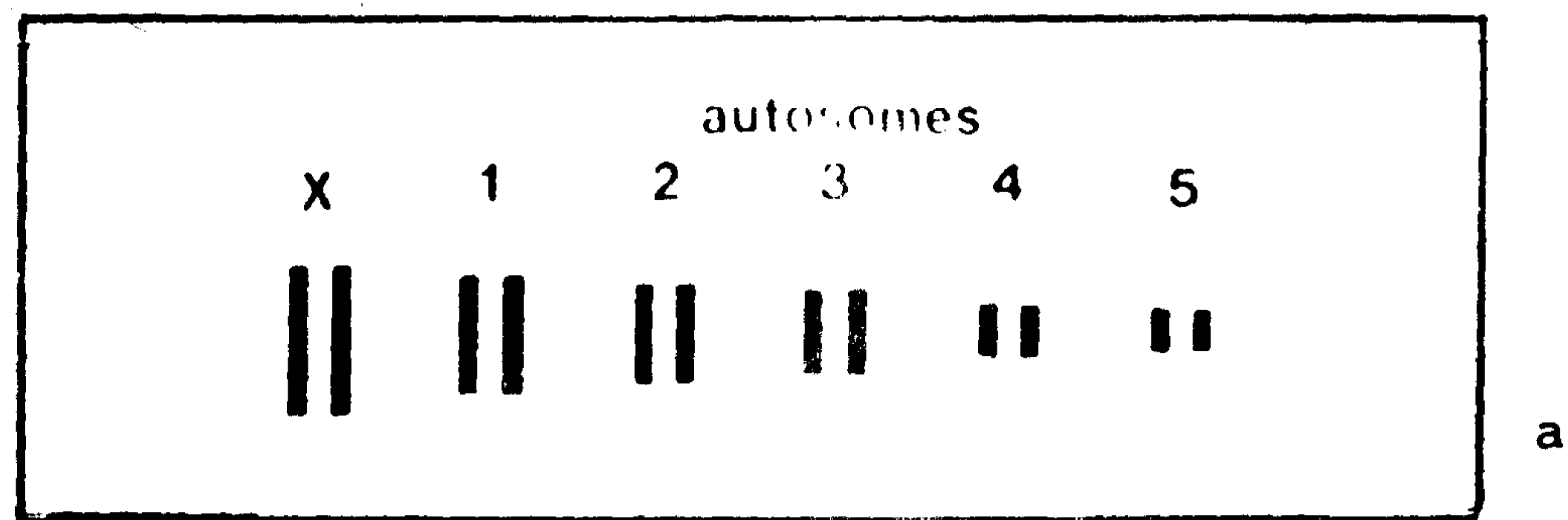
با توجه به بررسیهای بلکمن و تاکادا (۴) می توان از روی وجود یا عدم وجود ترانسلوکی شن در شته های سبز هلو پی برد که برخی فرمهای این شته در ایران نیز به سموم فسفره مقاوم شده اند.

سپاگزاری

اعتبار مالی این طرح از محل بودجه جهاد دانشگاهی تامین شده است که بدین وسیله سپاگزاری می شود.

جدول ۱- درصد تلفات شته ها چهار ساعت پس از آلوده شدن با دیازینون

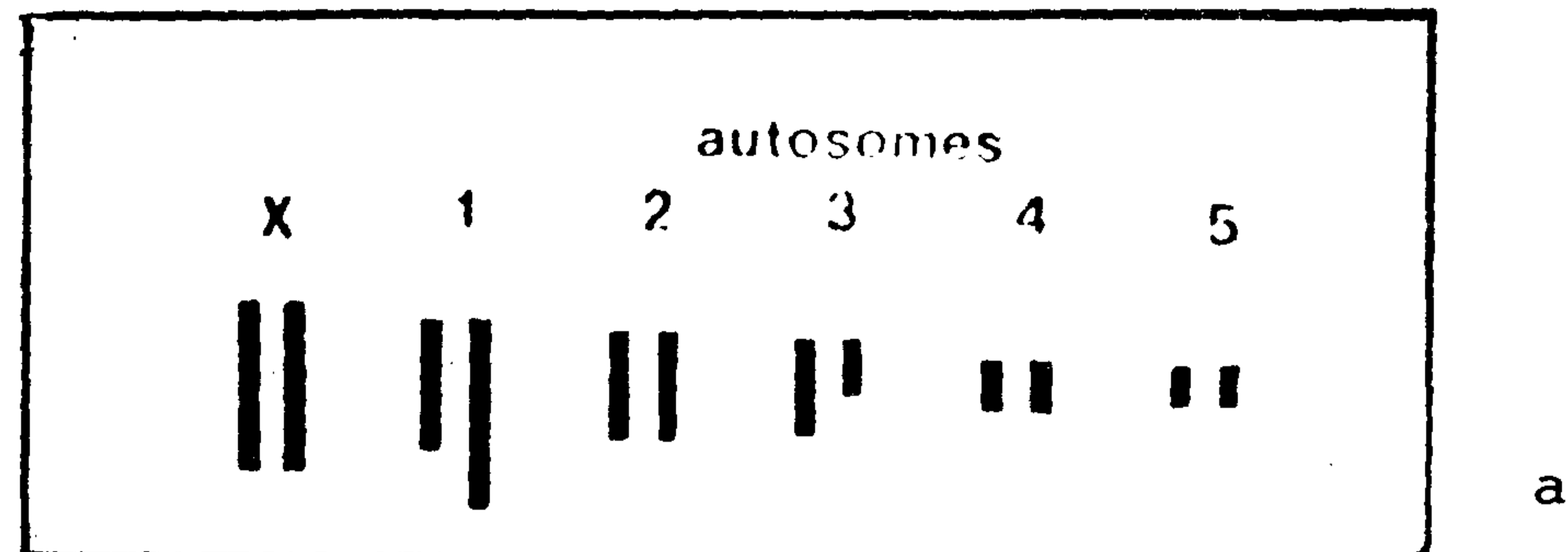
کیاه میزبان	داتوره (کلن A)				شاهد	بادنجان (کلن B)			
	۱	۲	۳	۴		۱	۲	۳	۴
تکرار									
نوبت اول	۲۵	۱۰	۱۵	۲۰	-	۱۵	۱۵	۱۵	۱۰
نوبت دوم	۲۵	۱۵	۱۰	۱۵	-	۱۰	۵	۱۰	۵



شکل ۱- کاریوتیپ طبیعی شته سبز هلو $2n = 12$

a- ایدیوگرام براساس جفت‌های همولوگد، رسم شده است، یک جفت کروموزوم جنسی (X) و ۵ جفت اتوزوم ۰

b- تصویر میکروسکوپی کاریوتیپ طبیعی ۰ یک جفت کروموزوم جنسی (X) و ۵ جفت اتوزوم ۰ بزرگنمایی $2000 \times$



شکل ۲- کاریوتیپ شته سبز هلو $2n=12$

a - ایدیوگرام براساس جفت‌های همولوگد با یک ترانسلوکی شن در اتوزوم ۱ و ۳.

b - تصویر میکروسکپی کاریوتیپ هتروزیگوس برای یک ترانسلوکی شن در اتوزوم ۱ و ۳.

X ، کروموزومهای جنسی • بزرگنمایی $\times 2000$

REFERENCES:

مراجع مورد استفاده:

- ۱- مراد اسحقی، مهج. ۱۳۵۵. یادداشت‌های منتشر نشده.
- 2- Blackman, R.L. 1980. Chromosome numbers in the aphididae and their taxonomic significance. *Systematic entomology*. 5,7-25.
- 3- Blackman, R.L. 1981. Aphid cytology and genetics. *Proceeding of the international aphidological symposium at Jablonna*.
- 4- Blackman, R.L. & H. Takada. 1977. The inheritance of natural chromosomal polymorphisms in the aphid *myzus persicae* (Sulzer). *Genetica*. 47, 1:9-15.
- 5- Bonnemaïson, L. 1968. Observations sur la resistance de *myzus (Myzodes) persicae* Sulz. á plusieurs aphicides. *Phytiatre-Phytopharmacie*. 2: 89-104.
- 6- Eastop, V.E. 1977. *World wide importance of aphids. As virus vectors*. Academic press, London.

Cytogenetical Resistance of Peach Aphid *Myzus Persicae* (Sulzer) to Phosphorous Insecticide (Diazinon) in Iran.

P. AHMADIAN TEHRANI, Late M.J. MORADESHAGI and S.H. HOJAT
Associate Professor, Agronomy and Plant Breeding Department, Late Professor.
Plant Protection Department University of Tehran and Professor plant
Protection Department Chamran University, Ahvaz, Respectively.
Received for Publication February 5, 1992.

SUMMARY

Populations of the peach aphid heterozygous for a translocation between autosomes 1 and 3 were first discovered in Great Britain.

The ineffectiveness of organophosphorus insecticides on peach aphids was observed in green houses of faculty of agriculture, Karaj in 1976. Cytological studies was carried out in 1981 to indicate that the translocation of peach aphid chromosomes in Iran and the relation between translocation and resistance to organophosphorus insecticides.

Some greenhouse reared clones and also clones reared from parthenogenetic female were used and tested for their resistance to 1ppm and 5ppm Diazinon, with four replications. Fourth instar apterous viviparae were dissected in fixative. The smallest embryos were squashed on a slide under a cover slip. Slides were studied under phase contrast microscope. Those clones which showed resistance, had translocation in their autosome 1 and 3.