

برهمکنش گیاهان ترانس ژنیک مقاوم به سوسک کلرادو
Leptinotarsa decemlineata با موجودات غیر هدف: اثرات جانبی
روی شته *Macrosiphum euphorbiae* و پارازیتوئید
Aphidius nigripes

احمد عاشوری^۱ و حسن عسکری^۲

۱، استادیار گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران

۲، استادیار بخش حمایت و حفاظت مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران

تاریخ پذیرش مقاله ۸۲/۳/۲۱

خلاصه

شایستگی شته سیب‌زمینی (*Macrosiphum euphorbiae*) و پارازیتوئید آن (*Aphidius nigripes*) روی پنج رقم گیاه سیب‌زمینی (ترانس ژنیک-BT، ترانس ژنیک-OCI، کلاسیک NYL 235-4 و دو شاهد) با درجات و مکانیسم‌های مختلف مقاومت به سوسک کلرادو (*Leptinotarsa decemlineata*) در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آزمایشگاهی نشان داد که عوامل مقاومت به سوسک کلرادو به اشکال مختلف بر زیست‌شناسی شته سیب‌زمینی و پارازیتوئید آن اثر می‌گذارند. گیاهان سیب‌زمینی ترانس ژنیک-BT بطور منفی بر ضریب شایستگی شته *M. euphorbiae* و پارازیتوئید آن *A. nigripes* اثر داشت و برعکس گیاهان ترانس ژنیک-OCI اثرات مثبتی روی فاکتورهای مختلف زیستی شته و پارازیتوئید داشته‌اند. بطوریکه این حشرات کمترین و بیشترین اندازه و به طبع کمترین و بیشترین زادآوری را به ترتیب روی گیاهان ترانس ژنیک-BT و ترانس ژنیک-OCI داشته‌اند. گیاه مقاوم کلاسیک NYL 235-4 در مقایسه با سایر گیاهان دارای بیشترین سازگاری با زنبور پارازیتوئید *A. nigripes* بوده است. بعلاوه در مقایسه با سایر ارقام سیب‌زمینی پارازیتوئیدها تلفات بیشتری روی رقم ترانس ژنیک-BT داشتند. نتایج بر این امر دلالت دارند که عوامل مقاومت (ژنها) به یک آفت اصلی در یک گیاه می‌توانند اثرات متفاوت و غیر قابل پیش‌بینی بر موجودات غیرهدف داشته باشند. از این نتایج چنین استنباط می‌گردد که بروز صفات جدید در درجه اول بستگی به طبیعت ذاتی ژن منتقل شده و سپس به برهمکنش احتمالی بین این ژن(ها) با ژن‌های اولیه (بومی) گیاه خواهد داشت.

واژه‌های کلیدی: برهمکنش گیاه - حشره، سیب‌زمینی ترانس ژنیک، موجودات غیر هدف، بیوتکنولوژی،

BT,OCI, NYL

مقدمه

ایجاد مقاومت طبیعی در گیاهان نسبت به آفات روشی است که از جمله مزایای آن نداشتن آلودگی زیست‌محیطی و سازگاری با دشمنان طبیعی می‌باشد (۳۱، ۴۲، ۴۴). اما اکنون با پیدایش گیاهان ترانس ژنیک (۲۰، ۲۳، ۱۹) این مزیت‌ها دچار تردید شده است (۶، ۱۶، ۴۳). انتقال ژن به گیاهان از جمله مسائلی است که از همان ابتدا باعث ایجاد نگرانی‌هایی در اذهان

دانشمندان در سراسر جهان گردید (۱، ۱۲، ۱۵، ۱۶، ۲۰). خصوصاً اینکه تعدادی از محققین در دهه نود پیشنهاداتی در خصوص انتقال بیش از یک ژن به گیاهان و ایجاد مقاومت هرمی (Pyramidal resistance) را ارائه کردند (۱۰، ۱۳، ۱۷، ۲۷، ۲۸، ۳۳).

اصلاح گیاهان با انتقال ژن یا ژنهای خارجی و با منشاء گیاهی یا غیر گیاهی باعث ایجاد تغییرات مهم در نقشه ژنتیکی

اثرات احتمالی توکسین BT و IPs روی آفات درجه دوم و دشمنان طبیعی آنها در دسترس می‌باشد (۴، ۱۶، ۲۰).
پیش از اقدام به کشت گیاهان ترانسژن شده در سطوح وسیع، انجام بررسی‌های آزمایشگاهی و صحرایی پیرامون اثرات این گیاهان بر محیط زیست و شناخت برهمکنش‌های احتمالی این عوامل با سایر اجزاء اکوسیستم و موجودات غیر هدف (Notarget Organisms)، بمنظور استفاده بهینه و مطمئن‌تر این گیاهان در یک کشاورزی پایدار، امری ضروری است (۲، ۲۹، ۳۰). هدف انجام این تحقیق تعیین اثرات مستقیم و غیر مستقیم دو رقم سیب‌زمینی ترانسژنیک مقاوم به سوسک کلرادو روی زیست‌شناسی شته سیب‌زمینی *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) و پارازیتوئید آن *Aphidius nigripes* (Ashmead) بعنوان موجودات غیر هدف، در شرایط آزمایشگاهی است. در این بررسی، ضمن مقایسه گیاهان مقاوم ترانسژنیک با گیاهان مقاوم کلاسیک، به نقد و ارزیابی تئوری جدید مقاومت هرمی پرداخته می‌شود.

مواد و روش‌ها

گیاه میزبان

پنج رقم گیاه سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) معمولی و مقاوم به سوسک کلرادو مورد آزمایش قرار گرفت. گیاهان مورد مقایسه بدین شرح بودند: الف) گیاه ترانسژنیک-BT (حاوی ژن CryIIIa باکتری *Bacillus thuringiensis*) تولید شده توسط شرکت NewLeaf™ (۱۴، ۳۵). ب) گیاه ترانسژنیک-OCI (حاوی ژن Oryzacystatin I، یک بازدارنده گوارشی IP) گرفته شده از دانه برنج که در دانشگاه لوال کانادا تولید شده است (۹، ۲۷). ج) گیاه مقاوم کلاسیک NYL 235-4 دارای تراکم بالایی از تریکوم در سطح برگها، که از تلاقی سیب‌زمینی وحشی با سیب‌زمینی معمولی (*Solanum berthaultii* X *S. tuberosum*) در دانشگاه کورنل امریکا تولید شده است (۳۶). د و ه) دو واریته تجاری بنام‌های Superior و Kennebec بعنوان شاهد به ترتیب برای گیاهان ترانسژنیک BT و OCI.

گیاهان از طریق یک غده ریز (۱۰±۵۰ گرمی) با حداقل دو چشمه‌جوانه‌زنی در گلدان‌هایی به قطر ۱۵ و ارتفاع ۱۲ سانتی‌متر

گیاه و در نتیجه ایجاد انواع تغییرات بیوشیمیایی در ساختار اولیه آن می‌گردد (۱۶، ۲۳، ۲۴، ۲۵، ۲۶، ۳۴، ۴۱). این تغییرات می‌تواند برهمکنش‌های متفاوتی (۳، ۴، ۸، ۱۵، ۲۱) در سطوح مختلف زنجیره غذایی بوجود آورد. سطوح دوم و سوم زنجیره غذایی به دلیل داشتن برهمکنش‌های چند سطحی با جمعیت‌ها و جوامع مختلف اکولوژیکی، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند (۴، ۷، ۱۲، ۱۵، ۱۶، ۲۱، ۳۷، ۴۳).

تا به امروز اغلب گیاهان تولید شده ترانسژنیک تنها برای مقاوم شدن در برابر یک حشره (آفت هدف) تولید و تکثیر یافته‌اند و اثرات احتمالی صفات تغییر یافته این گیاهان روی موجودات غیر هدف کمتر مورد توجه قرار گرفته است (۱۶، ۲۲، ۳۹). حال آنکه از جمله مواردیکه بایستی بدان اهتمام ورزید، مطالعه و شناخت اثرات و برهمکنش‌های احتمالی این نوع از گیاهان مقاوم بر سایر موجودات زنده حاضر در محیط، در سطوح مختلف زنجیره غذایی از جمله آفات درجه دوم و دشمنان طبیعی آنها می‌باشد (۶، ۷، ۲۰، ۳۷، ۴۴).

توکسین باکتری (*Bacillus thuringiensis* (BT) بازدارنده‌های پروتئاز (Inhibitor Proteinase IPs) از دسترس‌ترین منابع برای ترانسژن نمودن گیاهان برای ایجاد مقاومت در برابر آفات می‌باشند (۱۰، ۱۴، ۲۲، ۲۸، ۳۳، ۳۹، ۳۵). گیاه سیب‌زمینی نیز تاکنون با ژن مولد CryIIIa دلتا آندوتوکسین BT و اریزاسیستاتین یک (Oryzacystatin I) (بازدارنده پروتئاز IP) برای ایجاد مقاومت در برابر سوسک کلرادو ترانسژن شده است (۹، ۱۴، ۳۵، ۳۹). مقاومت ایجاد شده در سیب‌زمینی‌های تولید شده تنها در مقابل سوسک کلرادو (*Leptinotarsa decemlineata* (Say) به عنوان حشره هدف مورد ارزیابی قرار گرفته است. در حالیکه نتایج نشان داده است که سیب‌زمینی حاوی ژن باکتری BT گرچه نسبت به آفت فوق مقاوم بوده است اما در برابر بیشتر آفات درجه دوم حساس می‌باشد (۵). اغلب آفات درجه دوم سیب‌زمینی توسط شکارگرها و انگل‌ها بصورت طبیعی کنترل می‌گردند. گیاهان ترانسژن شده در مقایسه با گیاهان معمولی در مقابل سایر گیاهخواران دارای خصوصیات دفاعی متفاوتی هستند و ممکن است با حشرات مفید نیز سازگاری خوبی نداشته باشند (۵، ۶، ۲۰، ۲۹، ۳۰، ۳۸). بهرحال، اطلاعات بسیار کمی در خصوص

شته‌های بالغ بی‌بال تازه متولد شده ابتدا برای فریز شدن به دمای 22°C - منتقل و پس از یک هفته در آن 60°C به مدت ۴۸ ساعت خشک گردیدند. وزن شته‌های خشک شده بلافاصله پس از خروج از آن به کمک ترازوی حساس (0.001 mg) اندازه گیری و ثبت گردید.

برهمکنش گیاه-شته-پارازیتوئید

شته‌های سن سوم پوره‌گی که از زمان تولد بطور جداگانه روی هر یک از پنج گیاه تیمار رشد کرده بودند بصورت انفرادی در داخل کپسول ژلاتین شفاف در معرض یک پارازیتوئید ماده جوان آماده تخمگذاری قرار داده شدند. آزمایش با چشم پیگیری می‌شد و به محض انجام عمل انگلی شدن، شته‌ها از کپسول خارج و روی گیاه تیمار مربوطه منتقل گردیدند. شته‌های مومیایی شده، بصورت انفرادی به داخل کپسول ژلاتینی منتقل می‌شدند. روزانه شته‌های انگلی شده کنترل و تعداد مرگ‌ومیر احتمالی آنها ثبت گردید. به محض ظهور اولین پارازیتوئید بالغ عمل بازدید روزانه سه بار انجام تا تاریخ و ساعت تولد پارازیتوئیدها بطور دقیق‌تری ثبت گردد. نسبت مرگ‌ومیر پارازیتوئیدها در مقایسه با پارازیتوئیدهای زنده مانده محاسبه و طول دوره رشد و نمو نیز از زمان انگلی شدن تا زمان تولد بر حسب ساعت محاسبه و ملاک عمل قرار گرفت.

وزن خشک پارازیتوئیدها نیز بر حسب گیاه میزبان در آزمایشی جداگانه از پرورش پارازیتوئیدهای نر و ماده جوانی که به روش فوق بدست آمده بودند اندازه گیری شد. پارازیتوئیدها به محض تولد به روشی که در آزمایش قبل ذکر شد آماده و وزن گردیدند. همچنین قدرت زادآوری پارازیتوئیدها بر روی گیاهان مختلف با همسن‌سازی و پرورش آنها روی هر یک از پنج گیاه مورد آزمایش، اندازه گیری شد. بدین منظور ماده‌های جوان پارازیتوئید بطور انفرادی همراه با دو پارازیتوئید نر در یک ظرف شفاف پلاستیکی با ارتفاع ۳۵ و قطر ۱۵ سانتیمتری که از بالا و کنار بوسیله توری تهویه می‌شد قرار داده شدند. در داخل این ظروف یک گلدان حاوی گیاه چهار برگی سیب‌زمینی وارپته Norleand با ۴۰ پوره سن سوم شته قرار داده شد. این گیاه و شته‌ها روزانه با گیاه و شته‌های جدید جایگزین شدند. قدرت زادآوری پارازیتوئیدها در روزهای ۴، ۶، ۸، ۱۰ و ۱۲ پس از تولد با نگهداری گیاهان و شته‌های همراه تا ظهور مومی‌ها محاسبه

کشت و تکثیر شدند. خاک گلدان‌ها مخلوطی از خاک باغچه، ماسه و کود دامی به نسبت ۳: ۱: ۱ بود. یک هفته پس از کاشت، جوانه قوی‌تر انتخاب و بقیه حذف شدند. گیاهان در شرایط گلخانه با دمای $22 \pm 3/5^{\circ}\text{C}$ و رطوبت نسبی 75 ± 10 درصد پرورش داده شدند. در تمام آزمایشها از گیاه ۶-۴ برگی استفاده گردید.

کلنی حشرات

از دو گونه حشره در دو سطح مختلف زنجیره غذایی استفاده گردید. شته سیب‌زمینی *Macrosiphum euphorbiae* بعنوان حشره گیاهخوار در سطح دوم زنجیره غذایی و پارازیتوئید آن *Aphidius nigripes* بعنوان حشره گوشتخوار در سطح سوم زنجیره غذایی.

برای پرورش کلنی‌های اصلی شته و پارازیتوئید از وارپته سیب‌زمینی Norleand که با پنج لاین مورد آزمایش تفاوت داشت، استفاده شد. برای راه اندازی کلنی از شته بی‌بال بالغ جوان استفاده گردید. برای هر آزمایش و برای هر تیمار تعداد ۱۰ عدد از این شته‌ها در یک قفس به ابعاد $60 \times 40 \times 30$ سانتی‌متر حاوی ۸ گلدان گیاه ۶-۴ برگی رهاسازی شدند. پس از ۱۲ ساعت کلیه حشرات بجز پوره‌های جوان از کلنی‌ها حذف گردیدند. هر هفته دو کلنی راه‌اندازی و قدیمی‌ترین آنها که حداکثر چهار هفته از عمر آنها می‌گذشت، حذف می‌شدند. برای راه‌اندازی کلنی پارازیتوئید نیز هر هفته یک قفس حاوی پوره‌های سن سه شته انتخاب و تعداد ۶۰ عدد پارازیتوئید (نر و ماده) برای مدت ۲۴ ساعت به آن اضافه می‌گردید. با تشکیل کلنی‌های جدید، هر هفته قدیمی‌ترین کلنی پارازیتوئیدها نیز حذف می‌گردیدند.

آزمایش‌ها

برهمکنش گیاه-شته

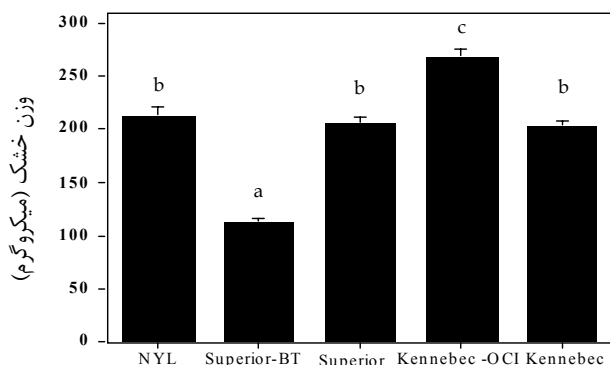
تعداد ۶۰ پوره جوان تازه متولد شده (۶-۱ ساعته) شته به ازای هر تیمار انتخاب و بصورت انفرادی در قفس‌های برگی شفاف که از انتها به کمک توری ریز تهویه می‌شد، روی برگ میانی گیاه قرار داده شدند. روزانه حشرات بازدید و تعداد مرگ‌ومیر احتمالی آنها تا ظهور حشرات بالغ ثبت گردید. تعداد مرگ‌ومیر شته‌ها از نسبت شته‌های زنده مانده به تعداد اولیه محاسبه و ملاک عمل قرار گرفت. برای تعیین وزن خشک حشره،

جدول ۱- درصد مرگومیر شته سیبزمینی *Macrosiphum euphorbiae* و پارازیتوئید آن *Aphidius nigripes* پرورش یافته روی رقم‌های مختلف ترانس ژنیک و معمولی سیبزمینی.

رقم‌های سیبزمینی	n	درصد مرگ و میر	
		پارازیتوئید (از تخم تا بلوغ)	شته (از تولد تا بلوغ)
NYL 235-4	60	18.3 a	41.67 b*
Superior-BT	60	40.7 b**	11.67 a
Superior	60	23.3 a	5.00 a
Kennebec-OCI	60	16.7 a	5.00 a
Kennebec	59	23.7 a	8.47 a

n تعداد تکرار است. مقادیر در هر ستون با حرف لاتین مختلف، بر اساس آزمون Pearson's Chi-square (*در سطح ۵٪ و ** در سطح ۲٪ خطا) با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند.

بالعکس، گیاه Transgenic-OCI اثرات مثبتی روی اندازه و زادآوری شته *M. euphorbiae* و پارازیتوئید آن *A. nigripes* داشته است. وزن شته‌ها و پارازیتوئیدها بر روی گیاه Transgenic-OCI نسبت به شاهد آن بیشتر و نسبت به Transgenic-BT بیش از دو برابر بوده است (شکل‌های ۱ و ۳). همچنین قدرت زادآوری حشرات مورد آزمایش بر روی این گیاه ترانس ژنیک بیشتر از شاهد بوده است (بترتیب ۳۷ و ۳۰ پوره/ماده در هفت روز؛ شکل ۲).



شکل ۱- وزن خشک (SEM ± میانگین) مربوط به شته‌های بی‌بال تازه متولد شده *Macrosiphum euphorbiae* پرورش یافته روی پنج رقم مختلف ترانس ژنیک و معمولی سیبزمینی. میانگین‌های با حرف لاتین مشترک، بر اساس آزمون Fisher's PLSD در سطح ۵٪ خطا با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

گردید (۱۱). تمام آزمایشها بر روی گیاهان ۴-۶ برگگی و در دمای $20 \pm 1^\circ\text{C}$ ؛ رطوبت نسبی 10 ± 65 درصد، دوره روشنایی ۱۶ و تاریکی ۸ ساعت انجام شدند.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

آزمایشها تماما در قالب طرح کامل تصادفی انجام و نتایج بدست آمده به روش Pearson's Chi-square و یا از طریق آنالیزواریانس (ANOVA) تجزیه و تحلیل گردیده‌اند. در صورت وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد، میانگین‌ها با کمک 'PLSD-Fischer با یکدیگر مقایسه و دسته بندی گردیدند. تجزیه اطلاعات بوسیله برنامه‌های نرم‌افزاری SuperANOVA و Statview 512+ با کامپیوتر McIntosh انجام شد.

نتایج

نتایج آزمایشها نشان داد که عوامل مقاومت به سوسک کلرادو به اشکال مختلف و غیر یکسان روی زیست‌شناسی شته سیبزمینی و پارازیتوئید آن اثر می‌گذارند. مرگومیر شته‌ها و پارازیتوئیدها بطور معنی‌داری (بترتیب $\chi^2_4 = 46.89$; $P = 0.0001$ و $\chi^2_4 = 46.89$; $P = 0.0203$) روی لاین‌های مختلف تفاوت داشت. بیشترین مرگومیر شته روی گیاه NYL با $41/67\%$ و کمترین آن با 5% روی Superior بوده است. در حالیکه بیشترین مرگومیر پارازیتوئید روی گیاه Transgenic-BT و کمترین آن روی Transgenic-OCI (بترتیب $40/7\%$ و $16/7\%$) اتفاق افتاد (جدول ۱).

شته‌ها روی گیاه Transgenic-BT در مقایسه با شاهد خود (Superior) بطور معنی‌داری ($F_{4,252} = 82.93$; $P = 0.0001$) دارای وزن کمتری (بترتیب $3/7 \mu\text{g} \pm 113$ و $6/1 \mu\text{g} \pm 205$) بوده‌اند (شکل ۱). در نتیجه قدرت زادآوری شته‌ها بر روی این گیاه بطور معنی‌داری ($F_{4,95} = 98.86$; $P = 0.0001$) کمتر از شاهد بود (شکل ۲). گیاه Transgenic-BT روی وزن پارازیتوئید تاثیر مشابهی داشت (شکل ۳). همچنین بیشترین مرگومیر پارازیتوئیدها روی این گیاه در مقایسه با سایر گیاهان مورد آزمایش (بیش از 40% در مقایسه با $18/3$ تا $23/7$ درصد برای سایرین) اتفاق افتاد (جدول ۱).

بحث

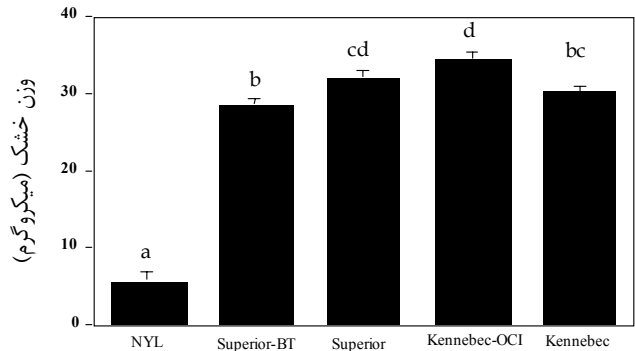
نتایج آزمایشها از دو دیدگاه قابل تحلیل است. نخست بررسی اثرات متفاوت ژن‌های مختلف مقاومت به یک آفت در یک گیاه واحد روی آفات دیگر در همان سطح غذایی (اثرات افقی) و دوم بررسی همین اثرات روی سایر موجودات در سطوح بالاتر زنجیره غذایی (اثرات عمودی). نتایج نشان می‌دهد که عوامل مقاومت به سوسک کلرادو گرچه با یک هدف مشترک یعنی برای ایجاد مقاومت در برابر سوسک کلرادو، به ژنوم گیاه سیب‌زمینی منتقل شده و دارای اثرات کم و بیش مشابهی نیز روی آفت هدف می‌باشند (۵، ۲۲، ۳۹)، ولی این گیاهان روی سایر حشرات در سطوح مختلف زنجیره غذایی دارای اثرات متفاوت و غیر قابل پیش‌بینی هستند.

جدول ۲- طول دوره رشد (\pm میانگین) بر حسب ساعت از زمان تفریح تخم تا مرحله بلوغ و همچنین میزان زادآوری (میانگین شته‌های انگلی شده \pm SEM) پارازیتوئید *Aphidius nigripes* پرورش یافته روی رقم‌های مختلف ترانس‌ژنیک و معمولی سیب‌زمینی.

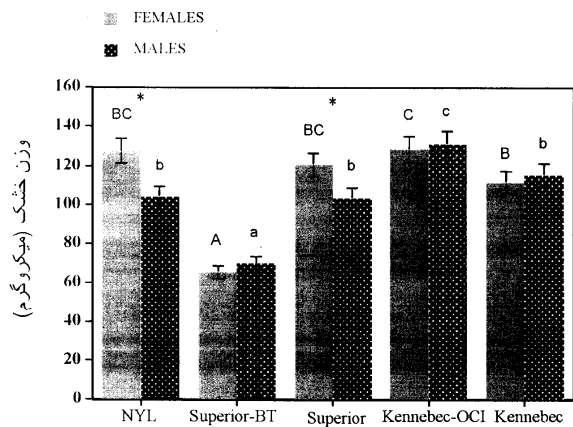
رقم‌های سیب‌زمینی	n	طول دوره رشد (ساعت)	n	زادآوری
NYL 235-4	18	403.7 \pm 3.0 a	15	7.5 \pm 1.3 b
Superior-BT	17	427.0 \pm 6.5 b	12	4.1 \pm 0.9 a
Superior	14	422.2 \pm 3.6 b	15	7.0 \pm 1.3 b
Kennebec-OCI	12	419.8 \pm 3.7 b	18	9.0 \pm 1.5 b
Kennebec	14	420.3 \pm 5.5 b	19	4.2 \pm 1.0 a

n تعداد تکرار است. مقادیر در هر ستون با حرف لاتین مشترک، بر اساس آزمون Fisher's PLSD در سطح ۵٪ خطا با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

بررسی‌ها بر این امر دلالت دارند که در مقام مقایسه، گیاهان مقاوم کلاسیک نسبت به گیاهان ترانس‌ژنیک، دارای اثرات قابل پیش‌بینی‌تری روی سایر موجودات بوده و معمولاً دارای سازگاری بهتری با حشرات مفید (دشمنان طبیعی) می‌باشند (۱۶، ۴۰، ۴۲، ۴۴). در حالیکه سایر عوامل مقاومت به آفات (ژنهای خارجی) در گیاهان ترانس‌ژنیک می‌توانند اثرات غیر قابل پیش‌بینی و متفاوت‌تری بر سایر موجودات (غیر هدف) از



شکل ۲- زادآوری کل (\pm میانگین) شته بی‌بال *Macrosiphum euphorbiae* روی پنج رقم مختلف ترانس‌ژنیک و معمولی سیب‌زمینی. میانگین‌های با حرف لاتین مشترک، بر اساس آزمون Fisher's PLSD در سطح ۵٪ خطا با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند.



رقم‌های سیب‌زمینی

شکل ۳- وزن خشک (میانگین \pm SEM) ماده‌ها و نرهای بالغ تازه متولد شده پارازیتوئید *Aphidius nigripes* پرورش یافته روی پنج رقم مختلف ترانس‌ژنیک و معمولی سیب‌زمینی. میانگین‌ها با حرف لاتین مشترک، بر اساس آزمون Fisher's PLSD در سطح ۵٪ خطا با یکدیگر معنی‌دار ندارند. ستاره (*) بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در بین جنس‌ها می‌باشد.

گیاه مقاوم کلاسیک NYL 235-4 دارای مقاومت بالایی در مقابل شته بود. بطوریکه شته‌ها روی این گیاه بیشترین مرگ‌ومیر (بیش از ۴۰٪؛ جدول ۱) و کمترین زادآوری (شکل ۲) را داشتند. در صورتی که زنبور پارازیتوئید *A. nigripes* بهترین سازگاری را با این گیاه داشته است. پارازیتوئیدها روی این گیاه مقاوم کلاسیک در مقایسه با سایر گیاهان مورد آزمایش دارای رشد سریع‌تر بودند (جدول ۲) این امر بیشتر در دوره شفیره‌گی رخ می‌دهد. در نتیجه پارازیتوئیدها زمان کمتری را برای تکمیل دوره زندگی خود صرف می‌کنند.

جمله دشمنان طبیعی داشته باشند (۳، ۴، ۱۶، ۲۰، ۲۱، ۴۳). عامل و یا عوامل مقاومت در گیاه NYL از طریق تلاقی سیب‌زمینی وحشی به سیب‌زمینی معمولی (*Solanum berthaultii* X *S. tuberosum*) منتقل شده است (۳۶)، لذا به نظر می‌رسد که این سازگاری بین گیاه و دشمن طبیعی، حاصل یک نوع تکامل همزمان و گام به گام در طی زمان باشد. در حالیکه برای ژن‌های غیر گیاهی مثل ژن BT که از یک باکتری خاکری (۱۴، ۳۵) می‌باشد، چنین امکانی وجود نداشته است. گرچه ممکن است عوامل دیگری بر عملکرد یک ژن در یک گیاه اثر بگذارند.

موجودات زنده طی تکامل خود همواره آن دسته از ژن‌هایی را توسعه می‌دهند که منجر به بهینه شدن شایستگی آنان گردد. گیاهان همواره در برابر فشارهای انتخابی سایر عوامل زنده مثل گیاهخواران قرار دارند، پس می‌توان تصور کرد که تمام متابولیت‌های ثانویه گیاه نوعی سازگاری تکامل یافته‌ای در برابر حشرات گیاهخوار باشند (۴۰). حشرات نیز با آن دسته از ژنوتیپ‌های گیاهی که از آنها تغذیه می‌کنند سازگار می‌شوند، چون ژنوتیپ گیاه عامل اصلی مؤثر بر کیفیت غذایی آنهاست (۳۸، ۳۹). طبیعتاً جوامع حشرات نیز در کنار سایر گروه‌های تاکسونومی در معرض انتخاب طبیعی قرار دارند. این رابطه چه بین حشره و گیاه باشد، چه بین حشره و سایر عوامل، نهایتاً به تکامل ختم می‌شود. در اصل تکامل اساس سازگاری با محیط یا شایستگی و بقا است، در واقع راه‌هایی که موجودات طی آن تحت انتخاب طبیعی رشد کرده، تولید مثل می‌کنند و می‌میرند (۴۰). شایستگی بقا توانایی نسبی موجودات یا فرزندان آنها برای بقا تحت شرایط محیطی مختلفی است که عوامل زنده و غیر زنده آنها را شکل می‌دهند.

نتیجه‌گیری

مکانیسم اثر ژن‌های مختلف در گیاهان روی موجودات در سطوح مختلف زنجیره غذایی بسیار پیچیده و در درجه اول

بستگی به طبیعت اختصاصی و ذاتی ژن انتقال داده شده و سپس به برهمکنش‌های احتمالی موجود بین این ژن (ها) با سایر ژن‌های اولیه (بومی) گیاه خواهد داشت (۳۴، ۲، ۱۶). از دیدگاه اکولوژیکی، تغییر در ساختار ژنتیکی گیاهان با انتقال دو یا چند ژن در حال حاضر و با این حد اطلاعات غیر قابل پذیرش است، چرا که وقتی ژن‌ها منفرداً در یک گیاه تا این حد دارای اثرات متغیر و متفاوتی بر بیو-اکولوژی موجودات غیر هدف می‌باشند، وجود چندتایی آنها بطور همزمان در یک گیاه دارای اثراتی بمراتب پیچیده‌تر و غیر قابل پیش‌بینی‌تری بر سایر اجزاء اکوسیستم خواهد داشت. لذا بنظر می‌رسد که بمنظور استفاده بهینه از گیاهان ترانس‌ژنیک در یک سیستم کشاورزی پایدار، می‌بایستی قبل از هر چیز برهمکنش‌های احتمالی این گیاهان با سایر موجودات مورد به مورد و در هر دو شرایط آزمایشگاهی و صحرایی بطور دقیق مورد بررسی قرار گیرد (۴، ۷، ۱۶، ۲۱، ۳۷)، تا ضمن بهره‌برداری صحیح از دستاوردهای بیوتکنولوژی، تا حد ممکن از خطرات جانبی احتمالی آن بر محیط زیست جلوگیری گردد.

سپاسگزاری

از جناب آقای C. Cloutier استاد دانشگاه لاول کانادا بخاطر راهنمایی‌های علمی‌شان، از پرفسور W.M. Tingey از دانشگاه کورنل امریکا بخاطر ارسال غده‌های سیب‌زمینی و از آقای دکتر منصور امیدی استادبار دانشگاه تهران بخاطر کمک به کشت بافت غده‌های سیب‌زمینی در ایران و همچنین از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تهران برای ایجاد امکان مسافرت به کانادا جهت تکمیل این تحقیق صمیمانه سپاسگزاری می‌شود. این پژوهش در قالب برنامه همکاری‌های علمی پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران و دانشکده کشاورزی دانشگاه لاول از محل ردیف‌های متمرکز انجام شده است که بدین وسیله سپاسگزاری می‌گردد.

REFERENCES

1. Abel, P., De B. Hoffmann N. Rogers S., Fraley R. T. and R. N. Beachy. 1986. Delay of disease development in transgenic plants that express the tobacco mosaic virus coat protein gene. *Science*, 232: 738-743.
2. Ashouri A. 1999. Interactions de la résistance aux ravageurs primaires avec les ravageurs secondaires et leurs ennemis naturels: le cas des pucerons (Homoptera: Aphididae) sur la pomme de terre (Solanaceae). Ph.D. Thesis. Université LAVAL, Canada. 186 pp.

3. Ashouri, A., Michaud D. and C. Cloutier. 2001. Unexpected effects of different potato resistance factors to the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) on the potato aphid (Homoptera: Aphididae). *Environ. Entomol.*, 30: 524-532.
4. Ashouri, A., Michaud D. and C. Cloutier. 2001. Recombinant and classically selected factors of potato plant resistance to the Colorado Potato Beetle, *Leptinotarsa decemlineata*, variously affect the potato aphid parasitoid *Aphidius nigripes*. *BioControl*, 46: 401-418.
5. Ashouri, A. and C. Cloutier. 1996. Interactions entre les pommes de terre résistantes au doryphore (*Leptinotarsa decemlineata*), les ravageurs secondaires et les ennemis naturels. *123ième Réunion annuelle de la Société d'entomologie du Québec (SEQ), Canada*.
6. Ashouri, A., Overney S., Michaud D. and C. Cloutier. 1998. Fitness and feeding are affected in the two-spotted stinkbug, *Perillus bioculatus*, by the cysteine proteinase inhibitor, oryzacystatin I. *Arch. Insect Physiol. Biochem.*, 38: 74 - 83.
7. Barbosa P. and S. D. Wratten. 1998. Influence of plants on invertebrate predators: Implications to conservation of biological control. In; *Conservation Biological Control* (P. Barbosa, ed.) pp. 83-100. Academic Press, San Diego.
8. Barbosa P., Saunders J. A., Kemper J., Trumbule R., Olechno J. and P. Martinat. 1986. Plant allelochemicals and insect parasitoids: effects of nicotine on *Cotesia congregata* (Say) (Hymenoptera: Braconidae) and *Hyposoter annulipes* (Cresson) (Hymenoptera: Ichneumonidae). *J. Chem. Ecol.*, 12: 1319-1327.
9. Benchekroun A., Michaud D., Nguyen-Quoc B., Overney S., Desjardins Y. and S. Yelle. 1995. Synthesis of active oryzacystatin I in transgenic potato plants. *Plant Cell Rep.*, 14: 585-588.
10. Boulter D., Edwards G. A., Gatehouse A. M. R., Gatehouse J. A. and V. A. Hilder. 1990. Additive protective effects of different plant-derived insect resistance genes in transgenic tobacco plants. *Crop Prot.*, 9: 351-354.
11. Cloutier C., McNeil J. N. and J. Regnière. 1981. Fecundity, longevity, and sex ratio of *Aphidius nigripes* (Hymenoptera: Aphidiidae) parasitizing different stages of its host, *Macrosiphum euphorbiae* (Homoptera: Aphididae). *Can. Entomol.*, 113: 193-198.
12. Dogan E. B., Berry R. E., Reed G. L. and P. A. Rossignol. 1996. Biological parameters of convergent lady beetle (Coleoptera, Coccinellidae) feeding on aphids (Homoptera, Aphididae) on transgenic potato. *J. Econ. Entomol.*, 89: 1105-1108.
13. Gatehouse A. and J. Gatehouse. 1998. Identifying proteins with insecticidal activity: Use of encoding genes to produce insect-resistant transgenic crops. *Pestic. Sci.*, 52: 165-175.
14. Gill S. S., Cowles E. A. and P. V. Pietrantonio. 1992. The mode of action of *Bacillus thuringiensis* endotoxins. *Ann. Rev. Entomol.*, 37: 615-636.
15. Girard C., LeMetayer M., Zaccomer B., Bartlet E., Williams I., BonadeBottino M., PhamDelegue M. and L. Jouanin. 1998. Growth stimulation of beetle larvae reared on a transgenic oilseed rape expressing a cysteine proteinase inhibitor. *J. Insect Physiol.*, 44: 263-270.24
16. Gould F. 1998. Sustainability of transgenic insecticidal cultivars: Integrating pest genetics and ecology. *Ann. Rev. Entomol.*, 43: 701 - 726.
17. Gregory P., Tingey W. M., Avé D. A. and P. Y. Bouthyette. 1986. Insect-defensive chemistry of potato glandular trichomes. In; *The plant surface and insects* (B. E. Juniper and T. R. E. Southwood, eds.), pp. 173-183. Blackwell Publishing Ltd, Oxford.
18. Hilder V. A. and A. M. R. Gatehouse. 1990. Transforming plants as a means of crop protection against insects. *Outlook Agric.*, 19: 179-183.
19. Hilder V. A., Gatehouse A. M. R., Sheerman S. E., Barker R. F. and D. Boulter. 1987. A novel mechanism of insect resistance engineered into tobacco. *Nature*, 330: 160-163.
20. Hoy C. W., Feldman G., Gould F., Kennedy G. G., Reed G. and J. A. Wyman. 1998. Naturally occurring biological controls in genetically engineered crops. In; *Conservation Biological Control* (P. Barbosa, ed.) pp. 185-205. Academic Press, San Diego.

21. Johnson M. T. and F. Gould. 1992. Interaction of genetically engineered host plant resistance and natural enemies of *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) in tobacco. *Environ. Entomol.*, 21: 586-597.
22. Jouanin L., Bonadé-Bottino M., Girard C. and G. Morrot. 1998. Transgenic plants for insect resistance. *Plant Sci.*, 131: 1-11.
23. Kaloshian I., Kinsey M. G., Ullman D. E. and V. M. Williamson. 1997. The impact of *Meul*-mediated in tomato on longevity, fecundity and behavior of potato aphid, *Macrosiphum euphorbiae*. *Entomol. Exp. Appl.*, 83: 181-187.
24. Kennedy G. G. and R. T. Yamamoto. 1979. A toxic factor causing resistance in a wild tomato to the tobacco hornworm and some other insects. *Entomol. Exp. Appl.*, 26: 121-126.
25. Kogan M. 1986. Natural chemicals in plant resistance to insects. *Iowa State J. Res.*, 60: 501-527.
26. Landolt P. J. and T. W. Phillips. 1997. Host plant influences on sex pheromone behavior of phytophagous insects. *Ann. Rev. Entomol.*, 42: 371-391.
27. Lecardonnell, A., Chauvin, L., Jouanin, L., Beaujean, A., Prévost, G. and B. Sangwan-Norreel. 1999. Effect of rice cystatin I expression in transgenic potato on Colorado potato beetle larvae. *Plant Science*, 140: 87-98.
28. MacIntosh S. C., Kishore G. M., Perlak F. J., Marrone P. G., Stone T. B., Sims S. R. and R. L. Fuchs. 1990. Potentiation of *Bacillus thuringiensis* insecticidal activity by serine protease inhibitors. *J. Agric. Food Chem.*, 38: 1145-1152.
29. Malone L. A., Giaccon H. A., Burgess E. P. J., Maxwell J. Z., Christeller J. T. and W. A. Laing. 1995. Toxicity of endopeptidase inhibitors to honey bees (Hymenoptera: Apidae). *J. Econ. Entomol.*, 88: 46-50.
30. Malone L., Burgess E., Christeller J. and H. Gatehouse. 1998. In vivo responses of honey bee midgut proteases to two protease inhibitors from potato. *J. Insect Physiol.*, 44: 141 - 147.
31. Maxwell F. G. and P. R. Jennings. 1980. Breeding plants resistant to insects. Wiley, New York. 36
32. Meeusen R. L. and G. Warren. 1989. Insect control with genetically engineered crops. *Ann. Rev. Entomol.*, 34: 373-381.
33. Michaud D. 1994. Potentiel des oryzacystatines I et II pour la production de plantes transgéniques de pomme de terre résistantes au doryphore. Thèse de doctorat, Université Laval, Canada. 213 pp.
34. Pelletier Y. and D. Michaud. 1996. Insect pest control on potato: genetically-based control. *In Lutte aux insectes nuisibles de la pomme de terre - Potato insect pest control* (R. M. Duchesne and G. Boiteau, eds.), pp. 69-80. Proceedings, Symposium, Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec, QC, Canada.
35. Perlak F. J., Stone T. B., Muskopf Y. M., Petersen L. J., Parker G. B., McPherson S. A., Wyman J., Love S., Reed G., Biever D. and D. A. Fischhoff. 1993. Genetically improved potatoes: protection from damage by Colorado potato beetles. *Plant Mol. Biol.*, 22: 313-321.
36. Plaisted R. L., Tingey W. M. and J. C. Steffens. 1992. The germplasm release of NYL 235-4, a clone with resistance to the Colorado potato beetle. *Am. Potato J.*, 69: 843-846.16
37. Poppy G. 1997. Tritrophic interactions: Improving ecological understanding and biological control? *Endeavour*, 21: 61-65.
38. Price P. W., Bouton C. E., Gross P., McPherson B. A., Thompson J. N. and A. E. Wies. 1980. Interactions among three trophic levels: Influence of plants on interactions between insect herbivores and natural enemies. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 11: 41-65.
39. Schuler T., Poppy G., Kerry B. and I. Denholm. 1998. Insect-resistant transgenic plants. *Trends Biotechnol.*, 16: 168-175.
40. Speight M. R., Hunter M. D. And A. D. Watt. 1999. Ecology of insects: concepts and applications. Blackwell Science, Oxford. 349 pp.
41. Stadler B. and M. Mackauer. 1996. Influence of plant quality on interactions between the aphid parasitoid, *Ephedrus californicus* Baker (Hymenoptera: Aphidiidae) and host, *Acyrtosiphon pisum* (Harris) (Homoptera: Aphididae). *Can. Entomol.*, 128: 27-39.

42. van Emden H. F. 1991. The role of host plant resistance in insect pest management. *Bull. Entomol. Res.*, 81: 123-126.
43. Westedt A., Douches D., Pett W. and E. Grafius. 1998. Evaluation of natural and engineered resistance mechanisms in *Solanum tuberosum* for resistance to *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae). *J. Econ. Entomol.*, 91: 552 - 556.
44. Wiseman B. R. 1994. Plant resistance to insects in integrated pest management. *Plant. Dis.*, 79: 927-932.

Interactions of Genetically Engineered Potato Resistance to Colorado Potato Beetle *Leptinotarsa decemlineata* and Nontarget Organisms: Effects on Biology of Potato Aphid *Macrosiphum euphorbiae* and it's Parasitoid, *Aphidius nigripes*

A. ASHOURI¹ AND H. ASKARY²

1, Assitant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tehran, 2, Assistant Professor, Research Institute of Forests & Rangelands, Forest and Rangeland Protection Division, Tehran, Iran.

Accepted Jun., 11, 2003

SUMMARY

Fitness of potato aphid *Macrosiphum euphorbiae* and it's parasitoid *Aphidius nigripes* were studied when the host was reared on either of five potato lines (transgenic-BT, transgenic-OCI, NYL 235-4 and two controls) with different mechanisms of resistance to the Colorado Potato Beetle (CPB) *Leptinotarsa decemlineata*. Results indicated that factors of potato resistance that are currently being developed mainly against the CPB affected the nontarget organisms in different ways. BT potatoes negatively affected fitness indices of *M. euphorbiae* and aphid parasitoid, whereas OCI-potatoes unexpectedly improved aphid and parasitoid performance. Aphids and parasitoids were larger on OCI and smaller on BT potatoes than in controls. This difference was reflected on aphid fecundity, which was lowest on BT, and highest on OCI. Parasitoid survival was significantly lower on the BT potatoes as compared to other lines. The parasitoid developed significantly faster on 'NYL 235-4' than on other lines. The results indicate that the performance of potato aphid as a secondary pest as well as it's parasitoid depends on the nature of the resistance factors; factors involved while developing specific resistance to primary pests.

Key words: Insect-plant interaction, Transgenic plants, Biotechnology, Nontarget organisms, *Bacillus thuringiensis*, Oryzacystatin I, NYL.