

برآورد شدت بیماری ناشی از ویروس وای سیب‌زمینی بر اساس وقوع بیماری در مزارع توتون استان گلستان

پریسا شریفی نظام‌آباد^{۱*}، سعید نصراله‌نژاد^۱، اکبر دیزجی^۲، محمدعلی آقاجانی^۳ و احمد ندیمی^۱

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۶/۱۴؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۲۴)

چکیده

ویروس وای سیب‌زمینی (*Potato virus Y, PVY*)، گونه تپ جنس *Potyvirus* از تیره *Potyviridae*، از جمله ویروس‌های مخرب توتون در دنیا می‌باشد. به منظور تعیین رابطه کمی بین میزان وقوع و شدت بیماری ناشی از PVY در پنج رقم رایج مورد کشت در مزارع توتون استان گلستان، طی فصل زراعی ۱۳۹۶، تعداد ۱۵ مزرعه توتون در سه شهرستان گرگان، علی‌آباد و مینودشت انتخاب و در فواصل زمانی ۱۵ روزه مورد بازدید قرار گرفت. در هر مزرعه ۵۰ بوته انتخاب و شاخص‌های وقوع و شدت بیماری در آنها ارزیابی گردید. به منظور ردیابی ویروس از روش DAS-ELISA با 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٪) و بارلی (۶/۲٪) ارزیابی شد. بر اساس نتایج حاصل از تحلیل آماری داده‌ها، بین ارقام توتون در شاخص‌های مورد ارزیابی تفاوت معنی‌دار بوده و بیشینه و کمینه میانگین شدت علائم در بوته‌های آلوده به PVY به ترتیب در ارقام PVH03 (۴/۴۴) و بارلی (۱/۸۲) مشاهده شد. همچنین مدل ریشه‌مربع (در حدود ۶۰ درصد مزارع) با ضریب تبیین متوسط ۸۲/۳۲ درصد و آلومتری (در حدود ۳۰ درصد مزارع) با ضریب تبیین متوسط ۸۹/۹۰ درصد، به عنوان بهترین مدل جهت توصیف روابط بین شاخص‌های وقوع و شدت بیماری در مزارع توتون انتخاب شدند. ارقام توتون بر اساس تجزیه‌ی واریانس شیب خط رگرسیون مدل ریشه‌مربع بین شاخص‌های وقوع و شدت بیماری در سه گروه: رقم PVH03 با شیب بالا (۱/۰۰۵)، رقم NC100 با شیب متوسط (۰/۷۲۹) و ارقام K326، بارلی و باسما با شیب کم (۰/۶-۰/۶۸) قرار گرفتند.

کلیدواژه: رقم PVH03 توتون، شدت علائم، ضریب تبیین، مدل ریشه‌مربع، مدل آلومتری.

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: pasharifi@alumni.ut.ac.ir

۱. به ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار و استادیار، گروه گیاهپزشکی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

۲. دانشیار، گروه گیاهپزشکی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران.

۳. دانشیار، بخش تحقیقات گیاه پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان، گرگان، ایران.

Estimation of disease severity of *potato virus y* based on disease incidence in Golestan province tobacco fields

P. Sharifi Nezamabad^{1*}, S. Nasrollah Nejad¹, A. Dizadji², M. A. Aghajani³, and A. Nadimi¹

(Received: 5.9.2019; Accepted: 13.2.2020)

Abstract

Potato virus Y, the type member of the genus *Potyvirus*, family *Potyviridae*, is one of the most destructive viruses of tobacco worldwide. To determine the relationships between incidence (*I*) and severity (*S*) of PVY disease in five cultivars in tobacco fields in Golestan province, several surveys were conducted during July to October 2017 at 15 days intervals in tobacco fields of Gorgan, Aliabad and Minoodasht. Two disease indicators (*I* and *S*) were evaluated in 50 plant samples for each farm. The presence of PVY was detected by double antibody sandwich-ELISA (DAS-ELISA) using PVY-specific polyclonal antibodies. The rate of PVY infection was different among tobacco cultivars and the maximum and minimum infection rates were belonged to PVH03 (33.6%) and Burley (6.2%) cultivars respectively. Based on the statistical analysis of data, there was a significant difference for disease indicators on different tobacco cultivars, as the maximum and minimum symptom severity mean value were evaluated in PVH03 (4.44) and Burley (1.82) cultivars, respectively. Also, Square Root model (Sqrt transformation of *I* and *S*) in 60 % of the fields ($R^2 = 82.32$ %), and Allometric model (natural logarithm transformation of *I* and *S*) in 30 % of the fields ($R^2 = 89.90$ %) showed the best fitness for the collected data, and were the best model to describe *I-S* relationships in PVY disease in tobacco fields. Based on the regression slope of Sqrt transformed values of *I* and *S*, the cultivars were classified in three groups, including PVH03 (with the highest slope of 1.005), NC100 (with the moderate slope of 0.729) and K326, Burley and Basma (with the lowest slope of 0.6 – 0.66).

Keywords: Allometric model, PVH03 tobacco cultivar, R square, Severity symptom, Square Root model

*Corresponding author's E-mail: pasharifi@alumni.ut.ac.ir

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

مقدمه

(Moarefzadeh & Khateri 2009; Khateri et al. 2004).

تنوع درون گونه‌ای بالای PVY امکان استفاده از منابع طبیعی مقاومت در میزبان‌ها را محدود کرده است (Lacroix et al. 2010; Chen et al. 2010).

برای مطالعه همه‌گیری بیماری‌های ویروسی از مدل‌های گسسته از زمان (Luo et al. 2015) یا پیوسته با زمان (Jeger et al. 1998; Madden et al. 2000) استفاده می‌شود، که مدل‌های پیوسته با زمان برای ارزیابی روش‌های کنترل بیماری‌های ویروسی از اهمیت بیشتری برخوردار می‌باشند (Gao et al. 2015; Jeger et al. 2018). برای شیوع بیماری دو شاخص وقوع (*Incidence, I*) (نسبت گیاهان آلوده به کل گیاهان مورد ارزیابی) و غالبیت (*Prevalence, P*) (نسبت مزارع آلوده به کل مزارع مورد ارزیابی) و برای شدت بیماری دو شاخص *Intensity* (شدت علائم بیماری) و *Systemicity* (نسبت شاخه‌های علائم دار هر گیاه) مورد استفاده قرار می‌گیرد (Butt & Royle 1980; Rossel et al. 1992; Sseruwagi et al. 2004; Bhyan et al. 2007). با وجود استفاده از روش‌های ارزیابی مشاهده‌ای، سنجش از دور، الکترونیکی و کلیدهای مصور خطای اندازه‌گیری شاخص شدت علائم بیماری بیش از اندازه‌گیری شاخص وقوع می‌باشد (James 1971; Campbell & Madden 1990; Guan & Nutter 2003). شاخص شدت علائم نسبت به وقوع در بیان مقدار بیماری جهت محاسبه خسارت بیماری و تأثیر تیمارهای مختلف مدیریت بیماری از اهمیت بسیار بالاتری برخوردار می‌باشد (Paul et al. 2005).

مطالعات زیادی در زمینه همه‌گیری بیماری‌های ویروسی انجام شده که به طور مثال به ویروس‌های پیچیدگی برگ زرد گوجه‌فرنگی (*Tomato yellow leaf curl virus*) در گوجه‌فرنگی (Velasco et al. 2008; Fargalla et al. 2011)، پژمردگی لکه‌ای گوجه‌فرنگی

گیاه توتون (*Nicotiana tabacum L.*) از خانواده بادمجانیان (*Solanaceae*)، یک محصول اقتصادی در دنیا است و طبق آمار شرکت دخانیات ایران، استان گلستان (شهرستان‌های علی‌آباد، گرگان و مینودشت) با بیشترین سطح زیر کشت توتون در کشور (۲۳۴۳ هکتار) ۵۹/۹ درصد تولید سالانه توتون ایران را به خود اختصاص داده است (بی‌نام، ۱۳۹۶). در علی‌آباد و گرگان تیپ‌غربی توتون (گروه‌های ویرجینیا و بارلی) و در مینودشت تیپ-شرقی (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). در سال ۱۳۹۶، از نظر درجه کیفیت توتون صنعتی تولید شده در کشور، استان گلستان دارای جایگاه اول برای ویرجینیا (با ۳۱/۸۳ درصد تولید) و جایگاه سوم برای ارقام بارلی و باسما (به ترتیب با ۳۱/۲۲ و ۱۶/۰۶ درصد تولید) می‌باشد (بی‌نام، ۱۳۹۶). بیماری‌های ویروسی به عنوان یکی از مهمترین عوامل زیستی ایجادکننده محدودیت‌های تولید توتون، در سراسر جهان مطرح هستند (Das et al. 2003; Bhyan et al. 2007). ویروس وای سیب‌زمینی (*Potato virus Y, PVY*) گونه تیپ جنس *Potyvirus* (تیره *Potyviridae*)، با دامنه میزبانی وسیع در بیش از نه خانواده گیاهی، مخرب‌ترین ویروس توتون در دنیا است (Kerlan 2006; Tsedaley 2015) و به عنوان پنجمین ویروس مهم اقتصادی جهان شناخته شده است (Scholthof et al. 2011). PVY یکی از شایع‌ترین ویروس‌های مزارع توتون استان‌های شمال ایران (۵۴/۶ درصد آلودگی) بوده و سه سویه O، N، و C (با غالبیت سویه O) از مزارع توتون ایران گزارش شده است

روش بررسی

تعداد ۱۵ مزرعه در مناطق عمده کشت توتون استان گلستان شامل شهرستان‌های 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, 2008) انتخاب گردید. بازدید مزارع از نیمه اول تیر تا نیمه دوم مهر ماه (پایان فصل رشد) به طور میانگین در پنج زمان T1 تا T5 در فواصل زمانی ۱۵ روز (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، نشانه‌گذاری و تا پایان فصل زراعی مورد ارزیابی قرار گرفتند. تفاوت در زمان‌های مورد اشاره بین دو شهرستان گرگان و علی‌آباد با شهرستان مینودشت به دلیل تفاوت دوره کاشت می‌باشد. جهت حذف اثر حاشیه در جمع‌آوری داده‌ها، اولین ردیف به فاصله سه متر از حاشیه مزرعه انتخاب گردید. فواصل بین ردیف‌ها بسته به مساحت مزرعه به گونه‌ای انتخاب شدند که بتوان ارزیابی درستی از کل مزرعه داشت. مزارع یک تا پنج مربوط به شهرستان مینودشت (یک و دو از منطقه قلی‌تپه، سه، چهار و پنج از منطقه پلنگر)، مزارع شش تا ۱۰ از شهرستان گرگان (شش و هفت از منطقه والش‌آباد، هشت، نه و ۱۰ از منطقه تقرتپه) و مزارع ۱۱ تا ۱۵ از شهرستان علی‌آباد (۱۱ و ۱۲ از منطقه پیچک‌محل، ۱۳، ۱۴ و ۱۵ از منطقه فاضل‌آباد) می‌باشند. بیشترین سطح زیر کشت (۶۶/۶۶ درصد) در مزارع مورد ارزیابی مربوط به ارقام باسما (تیپ شرقی، مزارع یک تا پنج از مینودشت)

(*Tomato spotted wilt virus*) در بادام‌زمینی (Culbreath et al. 2011)، ویروس وای سیب‌زمینی (Döring 2011; Kirchner 2014) در سیب‌زمینی، ویروس‌های موزائیک (*Cassava mosaic virus*) و رگه قهوه‌ای کاساوا (*Cassava brown streak virus*) در کاساوا (Legg et al. 2011) می‌توان اشاره کرد. مدل‌های کمی تعیین رابطه بین شاخص‌های وقوع و شدت بیماری (بر اساس ارزیابی مشاهده‌ای با استفاده از سیستم رتبه‌بندی) در مورد بسیاری از بیماری‌ها از جمله بیماری ویروسی موزائیک خیار (*Cucumber mosaic virus, CMV*) در گوجه‌فرنگی و ویروس تریستی‌زای مرکبات (*Citrus tristeza virus, CTV*) مورد تحلیل قرار گرفته است (McRoberts et al. 2003; Cardoso et al. 2004; Jurke & Fernando 2008). بنابراین اندازه‌گیری و درک روابط بین وقوع و شدت بیماری به عنوان بخشی از مطالعات همه‌گیری ویروسی جهت برآورد مقدار دقیق بیماری در طیف گسترده‌ای از زمان و مکان ضروری به نظر می‌رسد. روابط بین شاخص‌های وقوع و شدت بیماری ناشی از ویروس وای سیب‌زمینی، تاکنون در ایران مورد مطالعه قرار نگرفته است. با توجه به اهمیت PVY در کاهش کمیت و کیفیت توتون به خصوص در زمینه صادرات، بررسی دو شاخص وقوع و شدت بیماری به عنوان بخشی از مطالعات همه-گیری آن در ارقام تجاری توتون و تعیین رابطه بین دو شاخص بیماری می‌تواند نقش مهمی در ارائه‌ی راهکارهای مدیریتی مناسب برای این بیماری در ارقام توتون داشته و در نهایت منجر به افزایش کمیت و کیفیت تولید این محصول صنعتی گردد. این تحقیق با هدف تعیین رابطه کمی بین دو شاخص یادشده و ارائه مدلی جهت پیش‌بینی احتمالی شدت بیماری بر اساس ارزیابی شاخص وقوع PVY در مزارع توتون استان گلستان، به مرحله اجرا درآمد.

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 گردید. این رقت براساس ارزیابی مقدماتی و مشاهده بهترین رابطه خطی بین غلظت نسبی ویروس و OD₄₀₅ انتخاب شد.

برآورد شاخص‌های وقوع (Disease incidence, DI) و شدت بیماری (Disease severity, DS)

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

جهت تعیین شاخص شدت بیماری ناشی از PVY در بوته‌های توتون مورد ارزیابی در هر زمان و برای هر مزرعه، از معادله‌ی، (بالاترین درجه) = $D.S.(\%) = \sum(x_i n_i) / N$ بیانگر درجه شدت علایم بیماری، n_i بیانگر تعداد بوته‌های دارای علایم در درجه i و N بیانگر تعداد کل بوته‌های مورد ارزیابی (Cardoso et al. 2004; El-Sawy et al. 2017) و بر اساس مقیاس معتبر ویرر و همکاران (Verrier et al. 2001) با اندکی تغییرات استفاده شد. مقیاس هفت طبقه‌ای مورد استفاده جهت اندازه‌گیری شدت بیماری شامل صفر (بدون علایم موزائیک)، ۱ (موزائیک خفیف کمتر از ۲۰ درصد برگ‌ها)، ۳ (موزائیک ۲۰-۴۰ درصد برگ‌ها)، ۵ (موزائیک ۴۰-۶۰ درصد برگ‌ها)، ۷ (موزائیک ۱۰۰ درصد برگ‌ها به همراه بدشکلی خفیف)، ۹ (موزائیک ۱۰۰ درصد برگ‌ها به همراه بدشکلی شدید و باریک شدن برگ‌ها و ۱۱ (علائم نکروز رگبرگی در بوته‌ها) بود.

و NC100 (مزارع ۱۱،۱۲ از پیچک محله و ۱۴ از فاضل‌آباد و هشت و ۱۰ از تقرتپه) 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 تقرتپه و ۱۳ از فاضل‌آباد) نیز ۲۶/۶۶ درصد سطح زیر کشت را داشتند. بر اساس مقیاس مراحل رشدی توتون^۱ BBCH (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 ۱۱۱۰-۱۱۰۸ 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 الایزا (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) مورد بررسی قرار گرفتند. میزان جذب نور چاهک-های پلیت الایزا در طول موج ۴۰۵ نانومتر (OD₄₀₅) توسط دستگاه خوانشگر الایزا (ELISA-Reader) ثبت و نمونه-هایی با میزان جذب نور سه برابر میانگین جذب شاهد منفی (گیاه سالم) به عنوان نمونه آلوده به PVY در نظر

^۱ BBCH-scale "Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt und Chemische Industrie

تحلیل آماری داده‌ها

دارای علائم بافت مرده مربوط به توتون‌های گروه ویرجینیا (ارقام NC100 و K326) بود. در بین پنج رقم مورد ارزیابی در این تحقیق، بیشینه و کمینه درصد نمونه‌های آلوده به PVY به ترتیب در ارقام PVH03 (۳۳/۶ درصد (۸۴ نمونه آلوده از ۲۵۰)) و بارلی (۶/۲ درصد (۳۱ نمونه آلوده از ۵۰۰)) مشاهده شد (شکل ۱). بیشترین درصد آلودگی در نمونه‌های دارا و فاقد علائم به ترتیب در ارقام NC100 (۶۹/۰۳ درصد (۱۳۶ نمونه آلوده از ۱۹۷)) و باسما (۷۱/۰۷ درصد (۸۶ نمونه آلوده از ۱۲۱)) مشاهده گردید (شکل ۱).

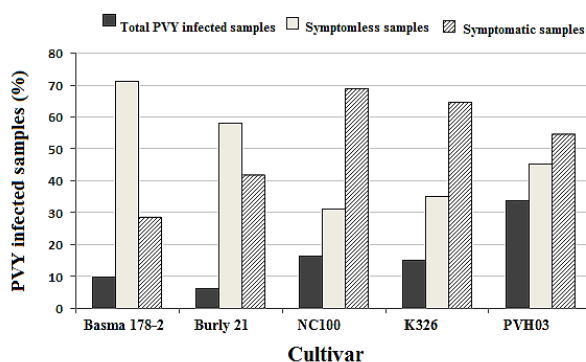
تحلیل آماری ارتباط بین علائم بیماری مشاهده شده و آلودگی به PVY در توتون

بر اساس نتایج حاصل از تحلیل آماری تغییرات میانگین شدت علائم بیماری بر اساس وقوع بیماری (I)، شاخص شدت علائم ویروسی بین بوته‌های آلوده ($I=1$) نسبت به بوته‌های غیر آلوده به PVY ($I=0$) بر اساس دو آماره F (F-Ratio) و P (P-Value)، تفاوت معنی‌داری در طول فصل زراعی و در تمام مناطق و ارقام داشت. در بین ارقام

جهت بررسی تغییرات شاخص‌های وقوع و شدت بیماری، نمودار مقادیر این دو شاخص در مقابل یکدیگر ترسیم و جهت تعیین تابع ریاضی رابطه بین دو متغیر یادشده، از رگرسیون خطی استفاده شد. تبدیل‌های لگاریتم طبیعی $(\ln(S) = \beta \ln(I) + \ln(\alpha))$ ، ریشه مربع $(\text{Sqrt}(S) = \beta \text{Sqrt}(I) + \alpha)$ و تبدیل مکمل لگاریتم $(\ln[-\ln(1-I)] = \beta \ln[-\ln(1-I)] + \alpha)$ ، در کنار رابطه‌ی خطی ساده $(S) = \beta \cdot I + \alpha$ (Paul et al. 2005; Schwanck et al. 2014) (= $\beta \cdot I + \alpha$) (Cardoso et al. 2004) جهت دستیابی به بهترین رابطه‌ی خطی بین وقوع و شدت بیماری در هر مزرعه و شهرستان در هر یک از زمان‌های مورد ارزیابی، مورد استفاده قرار گرفت. تحلیل‌های آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار Statgraphics Centurion 17.2.0 (Polhemus) (Statpoint Technologies, Inc., 1980) شرکت (Warrenton, Virginia) صورت پذیرفت.

نتایج

شاخص‌های وقوع PVY و علائم بیماری در ارقام مختلف توتون



شکل ۱. وقوع بیماری PVY ردیابی شده با الیزا در نمونه‌های

مورد ارزیابی در ارقام مختلف توتون در فصل زراعی ۱۳۹۶

Fig. 1. PVY disease incidence in tobacco cultivars at during 2017 cultivation season (Based on the ELISA results).

بر اساس نتایج آزمون ساندویچ دوطرفه الیزا از ۳۶۹۰ نمونه مورد بررسی در مجموع ۵۰۷ نمونه (۱۳/۷۳ درصد) به PVY آلوده بودند. از نظر علائم ویروسی، از تعداد ۵۰۷ بوته مورد ارزیابی آلوده به PVY، ۴۵/۱۶ درصد فاقد علائم، ۵۰/۴۹ درصد علائم موزائیک، زردی، رگ‌روشنی و بدشکلی در برگ‌ها و تنها ۴/۳۳ درصد دارای علائم نکروز رگبرگی و لکه‌های بافت مرده در پهنک برگ‌ها بودند. در نمونه‌های آلوده به PVY مربوط به رقم باسما علائم بافت مردگی رگبرگی مشاهده نشد. بیشترین بوته‌های بیمار

جدول ۱. تجزیه‌ی واریانس شدت علائم و غلظت نسبی PVY بر اساس شاخص وقوع بیماری (I) در ارقام و مناطق مختلف کشت توتون در فصل زراعی ۱۳۹۶

Table 1. Analysis of variance of PVY diseases severity symptom and PVY relative concentration (OD) based on the diseases incidence index (I) on tobacco cultivars during 2017 cultivation season.

Factor	Diseases severity symptom based on I (X = dependent variable and Y=I = Factor)					OD based on I (OD = X' = dependent variable and Y=I = Factor)				
	I=0		I=1		F-Ratio	I=0		I=1		F-Ratio
	X ₁	SEE	X ₂	SEE		X' ₁	SEE	X' ₂	SEE	
Burley	0.39 ^b	0.05	2.48 ^a	0.2	65.27 ^{**}	0.161 ^b	0.004	0.508 ^a	0.01	352.38 ^{**}
Basma	0.43 ^b	0.03	1.82 ^a	0.1	137.50 ^{**}	0.152 ^b	0.004	0.497 ^a	0.01	475.54 ^{**}
NC100	0.54 ^b	0.05	2.28 ^a	0.4	18.28 ^{**}	0.161 ^b	0.001	0.396 ^a	0.01	410.83 ^{**}
K326	0.49 ^b	0.08	3.19 ^a	0.2	252.18 ^{**}	0.156 ^b	0.009	0.841 ^a	0.02	904.69 ^{**}
PVH03	0.93 ^b	0.01	4.44 ^a	0.2	52.60 ^{**}	0.167 ^b	0.002	0.901 ^a	0.03	241.19 ^{**}
Qolitappeh	0.69 ^b	0.06	2.54 ^a	0.01	77.06 ^{**}	0.157 ^b	0.007	0.599 ^a	0.02	197.9 ^{**}
Palangar	0.26 ^b	0.03	1.1 ^a	0.1	47.19 ^{**}	0.148 ^b	0.003	0.402 ^a	0.01	343.71 ^{**}
Taqartappeh	0.54 ^b	0.09	4.82 ^a	0.1	446.89 ^{**}	0.160 ^b	0.005	0.629 ^a	0.01	1551.15 ^{**}
Valeshabad	0.39 ^b	0.05	2.48 ^a	0.2	65.27 ^{**}	0.161 ^b	0.004	0.508 ^a	0.01	352.38 ^{**}
Fazelabad	0.69 ^b	0.08	3.84 ^a	0.1	280.80 ^{**}	0.161 ^b	0.009	0.871 ^a	0.02	1016.68 ^{**}
Pichak mahalleh	0.17 ^b	0.06	2.1 ^a	0.3	32.12 ^{**}	0.184 ^b	0.003	0.366 ^a	0.01	108.47 ^{**}

**، به مفهوم معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۱٪ متغیرها می‌باشد.

X₁ و X₂ میانگین شدت علائم بیماری به ترتیب در بوته غیر آلوده و بوته آلوده به PVY؛ X'₁ و X'₂ میانگین غلظت نسبی PVY بر اساس OD 405 به ترتیب در بوته‌ی غیر آلوده (I=0) و آلوده به PVY (I=1).

**، denotes a statistically significant difference at the probability level of 1%.

X₁ and X₂, Average values of PVY diseases severity on non-infected and PVY infected plants, respectively.

X'₁ and X'₂, Average values of PVY relative concentration (OD₄₀₅) on non-infected (I=0) and PVY infected plants (I=1), respectively.

شدت بیماری همبستگی مستقیم و معنی‌داری ($P \leq 0.00$) در طول فصل زراعی و در تمام مناطق و ارقام مشاهده گردید. در شهرستان مینودشت بین شاخص‌های وقوع و شدت بیماری در پنج زمان مورد ارزیابی، بیشینه و کمینه میزان همبستگی به ترتیب در زمان T5 ($r = 0.92$) و $P \leq 0.00$ در ۲۴ شهریور و T3 ($r = 0.39$) و $P \leq 0.00$ در ۱۳ مرداد ماه مشاهده شد. در شهرستان گرگان بین شاخص‌های وقوع و شدت بیماری در پنج زمان مورد ارزیابی، بیشینه و کمینه میزان همبستگی به ترتیب در زمان T3 ($r = 0.99$) و $P \leq 0.00$ در ۲ شهریور و T1 ($r = 0.30$) و $P \leq 0.00$ در ۲۵ تیر ماه و علی‌آباد، بیشینه و کمینه میزان همبستگی به ترتیب در زمان‌های T5 ($r = 0.97$)

مورد بررسی، بیشینه و کمینه میانگین شدت علائم در بوته‌های آلوده به PVY به ترتیب در ارقام PVH03 (۴/۴۴) و بارلی (۱/۸۲) مشاهده شد. همچنین بیشترین میانگین غلظت نسبی ویروس نیز در ارقام PVH03 (۰/۹۰۱) و K326 (۰/۸۴۱) ارزیابی گردید در حالی که رقم NC100 دارای کمترین میانگین غلظت نسبی ویروس (۰/۳۹۶) بود (جدول ۱).

همبستگی بین متغیرهای شدت علائم ویروسی (بر اساس مقیاس روی بوته‌ها)، غلظت نسبی PVY (OD₄₀₅) و وقوع بیماری با استفاده از ضریب همبستگی پیرسون در مزارع سه شهرستان (مینودشت، گرگان و علی‌آباد) در طول فصل زراعی ارزیابی گردید. بین شاخص‌های وقوع و

جدول ۲. تجزیه‌ی واریانس شدت علائم و غلظت نسبی PVY بر اساس شاخص وقوع بیماری (I) در زمان‌های مختلف در شهرستان‌های مینودشت (M)، علی‌آباد (A)، گرگان (G) و کل استان بدون در نظر گرفتن شهرستان‌ها (T) در فصل زراعی ۱۳۹۶

Table 2. Analysis of variance of PVY symptom severity and PVY relative concentration (OD) based on the diseases incidence index (I) in Gorgan (G), Ali Abad (A), Minoodasht (M) cities and the Golestan province regardless of cities (T) at different time intervals during 2017 cultivation season.

Factor	Diseases severity symptom based on I (X = dependent variable and Y=I = Factor)					OD based on I (OD = X' = dependent variable and Y=I = Factor)					
	I=0		I=1		F-Ratio	R	I=0		I=1		F-Ratio
	X ₁	SEE	X ₂	SEE			X' ₁	SEE	X' ₂	SEE	
A- I ₁	0.16 ^b	0.05	2.18 ^a	0.2	77.92**	0.59	0.180 ^b	0.015	1.065 ^a	0.04	423.88**
A- I ₂	0.38 ^b	0.07	2.06 ^a	0.2	46.67**	0.43	0.153 ^b	0.01	1.051 ^a	0.05	272.16**
A- I ₃	0.63 ^b	0.1	1.85 ^a	0.4	63.24**	0.66	0.139 ^b	0.007	0.586 ^a	0.02	257.98**
A- I ₄	0.44 ^b	0.09	4.17 ^a	0.2	266.52**	0.86	0.150 ^b	0.009	0.878 ^a	0.02	1030.72**
A- I ₅	1.98 ^b	0.1	6.93 ^a	0.4	107.93**	0.97	0.177 ^b	0.005	0.517 ^a	0.01	558.21**
A- I _t	0.71 ^b	0.05	3.78 ^a	0.1	328.42**	0.76	0.160 ^b	0.005	0.843 ^a	0.015	1642.19**
G- I ₁	0.11 ^b	0.02	1.17 ^a	0.05	293.68**	0.30	0.146 ^b	0.008	0.659 ^a	0.017	667.92**
G- I ₂	0.46 ^b	0.13	5.85 ^a	0.3	179.12**	0.81	0.140 ^b	0.006	0.617 ^a	0.02	496.18**
G- I ₃	0.46 ^b	0.1	5.50 ^a	0.4	87.83**	0.99	0.160 ^b	0.003	0.537 ^a	0.01	613.66**
G- I ₄	0.34 ^b	0.1	4.81 ^a	0.3	185.18**	0.85	0.162 ^b	0.007	0.681 ^a	0.01	629.54**
G- I ₅	0.96 ^b	0.1	6.68 ^a	0.2	284.55**	0.95	0.202 ^b	0.01	0.620 ^a	0.01	362.15**
G- I _t	0.46 ^b	0.05	4.5 ^a	0.1	664.99**	0.78	0.161 ^b	0.003	0.636 ^a	0.008	2630.50**
M- I ₁	0.13 ^b	0.04	1.69 ^a	0.09	230.94**	0.47	0.105 ^b	0.02	0.619 ^a	0.04	66.79**
M- I ₂	0.95 ^b	0.09	4.33 ^a	0.8	15.56**	0.81	0.099 ^b	0.001	0.553 ^a	0.006	3463.34**
M- I ₃	0.28 ^b	0.07	1.40 ^a	0.1	32.84**	0.39	0.171 ^b	0.005	0.419 ^a	0.01	411.66**
M- I ₄	0.25 ^b	0.05	3.44 ^a	0.2	111.36**	0.81	0.144 ^b	0.002	0.428 ^a	0.01	709.04**
M- I ₅	0.44 ^b	0.01	1.67 ^a	0.1	122.51**	0.92	0.140 ^b	0.001	0.427 ^a	0.01	740.62**
M- I _t	0.43 ^b	0.03	1.89 ^a	0.05	138.51**	0.63	0.150 ^b	0.004	0.508 ^a	0.01	542.25**
T- I ₁	0.14 ^b	0.03	1.61 ^a	0.07	333.42**	0.44	0.177 ^b	0.009	0.747 ^a	0.02	558.66**
T- I ₂	0.61 ^b	0.05	4.17 ^a	0.2	220.29**	0.68	0.130 ^b	0.006	0.804 ^a	0.02	790.04**
T- I ₃	0.45 ^b	0.06	2.13 ^a	0.1	261.93**	0.58	0.157 ^b	0.003	0.469 ^a	0.009	988.84**
T- I ₄	0.34 ^b	0.05	4.34 ^a	0.1	629.82**	0.86	0.152 ^b	0.004	0.759 ^a	0.01	2153.36**
T- I ₅	1.09 ^b	0.08	6.5 ^a	0.2	503.40**	0.95	0.171 ^b	0.003	0.577 ^a	0.01	1308.02**
T- I _t	0.53 ^b	0.03	3.6 ^a	0.08	1178.74**	0.71	0.157 ^b	0.007	0.674 ^a	0.003	3927.28**

**، به مفهوم معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۱٪ متغیرها می‌باشد.

X₁ و X₂، میانگین شدت علائم بیماری به ترتیب در بوته غیر آلوده و بوته آلوده به PVY؛ X'₁ و X'₂، میانگین غلظت نسبی PVY بر اساس OD 405 به ترتیب در بوته‌ی غیر آلوده (I=0) و آلوده به PVY (I=1)؛ Y_i (i=1, 2, 3, ..., 5) بیانگر زمان‌های ارزیابی و جمع‌آوری اطلاعات در طول فصل زراعی ۱۳۹۶؛ t = i بیانگر کل داده‌های فصل زراعی بدون در نظر گرفتن زمان خاصی در آن شهرستان).

**، denotes a statistically significant difference at the probability level of 1%.

X₁ and X₂, Average values of PVY diseases severity on non-infected and PVY infected plants, respectively.

X'₁ and X'₂, Average values of PVY relative concentration (OD₄₀₅) on non-infected (I=0) and PVY infected plants (I=1), respectively.

Y_i, (i= 1, 2, 3, ..., 5) denotes different time intervals (t) during 2017 cultivation season; t=i, denotes the total data regardless of the specific time in cultivation season.

جهت تعیین روابط آماری تغییرات داده‌های وقوع و شدت بیماری PVY در مزارع توتون استان گلستان، نمودار در ۱۹ مهر و T2 (P ≤ 0.00 و r = 0.43) در ۹ مرداد ماه مشاهده شد (جدول ۲).

جدول ۳. بهترین مدل‌های برازش‌یافته رابطه وقوع و شدت بیماری ویروسی PVY بر اساس رگرسیون خطی داده‌های تبدیل شده در ارقام، مزارع و مناطق تحت کشت توتون استان گلستان

Table 3. The best fitted models based on the linear regression data for the PVY incidence-severity relationships in tobacco cultivars, tobacco fields and tobacco cultivation regions in Golestan province.

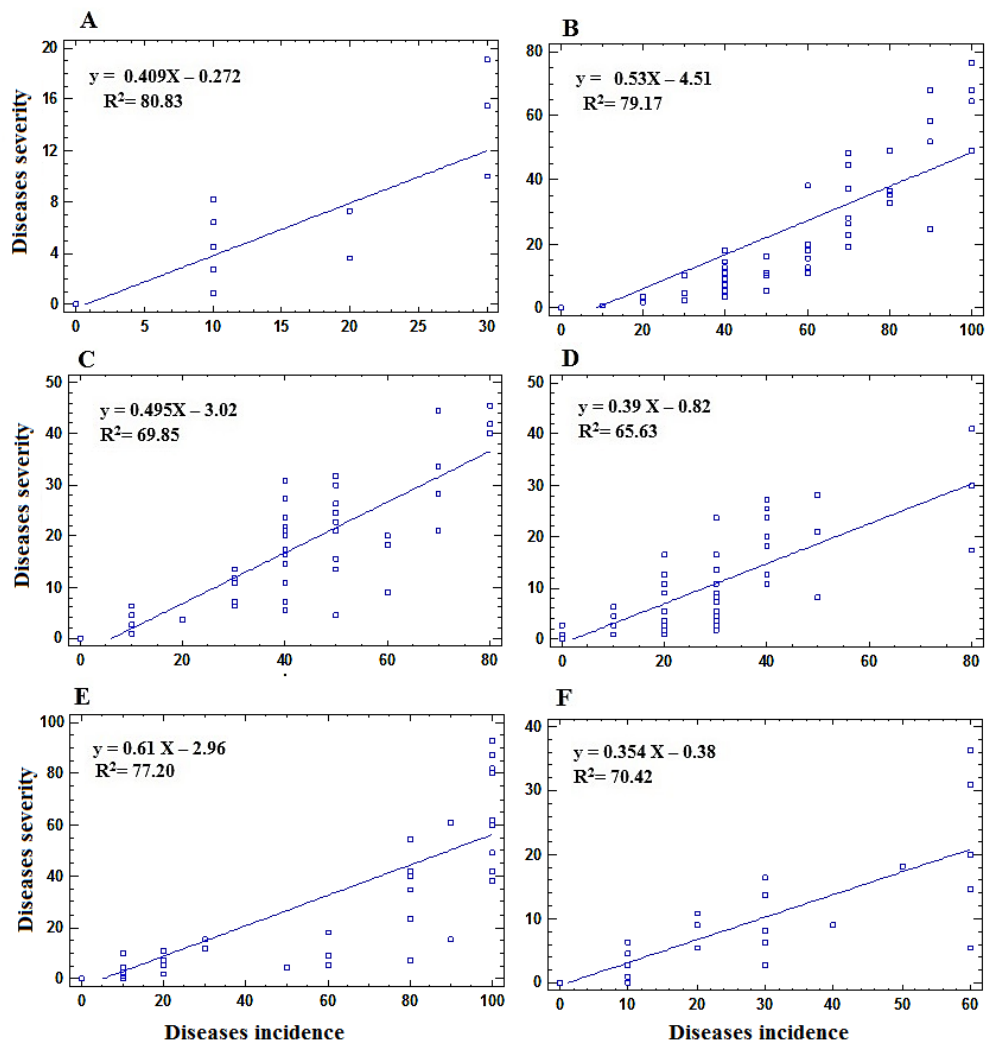
City/ region/ field and cultivar	Model	Intercept	Slope	R ²	SEE
Gorgan	Allometric ($\ln(S) = -0.286 + 0.752 \cdot \ln(I)$)	-0.286	0.752**	76.68	0.72
Ali Abad	Sqrt ($\text{Sqrt}(S) = -0.202 + 0.631 \cdot \text{Sqrt}(I)$)	-0.202	0.631**	89.57	0.75
Minoodasht	Sqrt ($\text{Sqrt}(S) = -0.227 + 0.642 \cdot \text{Sqrt}(I)$)	-0.227	0.642**	76.57	0.86
Taqartappeh	Allometric ($\ln(S) = -0.25 + 0.784 \cdot \ln(I)$)	-0.255	0.784**	80.42	0.74
Fazelabad	Sqrt ($\text{Sqrt}(S) = -0.455 + 0.681 \cdot \text{Sqrt}(I)$)	-0.455	0.681**	86.76	0.98
Qolitappeh	Sqrt ($\text{Sqrt}(S) = -0.506 + 0.709 \cdot \text{Sqrt}(I)$)	-0.506	0.709**	74.61	0.86
Palangar	Sqrt ($\text{Sqrt}(S) = -0.047 + 0.577 \cdot \text{Sqrt}(I)$)	-0.047	0.577**	72.48	0.85
Valeshabad	Sqrt ($\text{Sqrt}(S) = -0.123 + 0.572 \cdot \text{Sqrt}(I)$)	-0.124	0.572**	78.41	0.74
Pichakmahalleh	Sqrt ($\text{Sqrt}(S) = -0.036 + 0.591 \cdot \text{Sqrt}(I)$)	-0.036	0.591**	89.78	0.39
Field 1	Allometric ($\ln(S) = -3.04 + 1.54 \cdot \ln(I)$)	-3.04	1.54**	82.55	0.42
Field 2	Sqrt ($\text{Sqrt}(S) = -0.23 + 0.68 \cdot \text{Sqrt}(I)$)	-0.23	0.68**	85.11	0.62
Field 3	Sqrt ($\text{Sqrt}(S) = -0.104 + 0.66 \cdot \text{Sqrt}(I)$)	-0.104	0.66**	91.88	0.46
Field 4	Sqrt ($\text{Sqrt}(S) = -0.26 + 0.56 \cdot \text{Sqrt}(I)$)	-0.26	0.56**	78.09	0.63
Field 5	Linear ($S = -3.39 + 0.443 \cdot I$)	-3.39	0.443**	76.27	5.02
Field 6	Sqrt ($\text{Sqrt}(S) = -0.024 + 0.654 \cdot \text{Sqrt}(I)$)	-0.024	0.654**	97.81	0.21
Field 7	Linear ($S = 0.336 + 0.289 \cdot I$)	0.336	0.289**	83.54	2.28
Field 8	Sqrt ($\text{Sqrt}(S) = -0.052 + 0.609 \cdot \text{Sqrt}(I)$)	-0.052	0.609**	94.32	0.32
Field 9	Sqrt ($\text{Sqrt}(S) = 0.0 + 0.256 \cdot \text{Sqrt}(I)$)	0.0	0.256**	25.77	0.66
Field 10	Allometric ($\ln(S) = -13.92 + 3.94 \cdot \ln(I)$)	-13.92	3.94**	87.54	0.34
Field 11	Sqrt ($\text{Sqrt}(S) = -0.016 + 0.444 \cdot \text{Sqrt}(I)$)	-0.016	0.444**	89.01	0.22
Field 12	Sqrt ($\text{Sqrt}(S) = -0.031 + 0.62 \cdot \text{Sqrt}(I)$)	-0.031	0.62**	96.57	0.25
Field 13	Allometric ($\ln(S) = -7.29 + 2.49 \cdot \ln(I)$)	-7.29	2.49**	96.51	0.19
Field 15	Allometric ($\ln(S) = -4.18 + 1.76 \cdot \ln(I)$)	-4.18	1.76**	89.03	0.39
Basma	Sqrt ($\text{Sqrt}(S) = -0.227 + 0.642 \cdot \text{Sqrt}(I)$)	-0.227	0.642**	76.57	0.86
Burley	Sqrt ($\text{Sqrt}(S) = -0.189 + 0.604 \cdot \text{Sqrt}(I)$)	-0.189	0.604**	81.82	0.68
NC100	Sqrt ($\text{Sqrt}(S) = -0.231 + 0.729 \cdot \text{Sqrt}(I)$)	-0.231	0.729**	90.69	0.82
K326	Sqrt ($\text{Sqrt}(S) = -0.424 + 0.662 \cdot \text{Sqrt}(I)$)	-0.424	0.662**	86.32	0.96
PVH03	Allometric ($\ln(S) = -4.18 + 1.76 \cdot \ln(I)$)	-4.18	1.76**	89.03	0.39

** به مفهوم معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۱٪ می‌باشد.

** , denotes a statistically significant difference at the probability level of 1%.

برازش، ضریب تبیین بالا، انحراف معیار پایین و نمودار باقیمانده‌ها)، در بین سه شهرستان (به استثناء گرگان، مدل آلومتری)، ارقام (به استثناء رقم PVH03، مدل آلومتری) و تمام مناطق مورد بررسی، مدل ریشه‌مربع بالاترین برازش را جهت بیان روابط بین دو شاخص بیماری PVY داشته و به عنوان بهترین مدل برای توصیف تغییرات داده‌های وقوع و شدت بیماری PVY در این تحقیق انتخاب گردید (جدول ۳). این مدل توانست روابط بین این دو شاخص

مقادیر این دو کمیت در مقابل یکدیگر ترسیم گردیده و جهت تعیین تابع ریاضی رابطه بین دو متغیر یادشده، از رگرسیون خطی استفاده شد. تبدیل‌های لگاریتم طبیعی (آلومتری)، ریشه مربع و تبدیل مکمل لگاریتم لگاریتم (Complementary Log-Log (CLL))، در کنار رابطه‌ی خطی ساده جهت دستیابی به بهترین رابطه‌ی خطی بین وقوع و شدت بیماری در هر مزرعه و شهرستان استفاده شد. بر اساس نتایج حاصل از تحلیل آماری (مزارع دارای

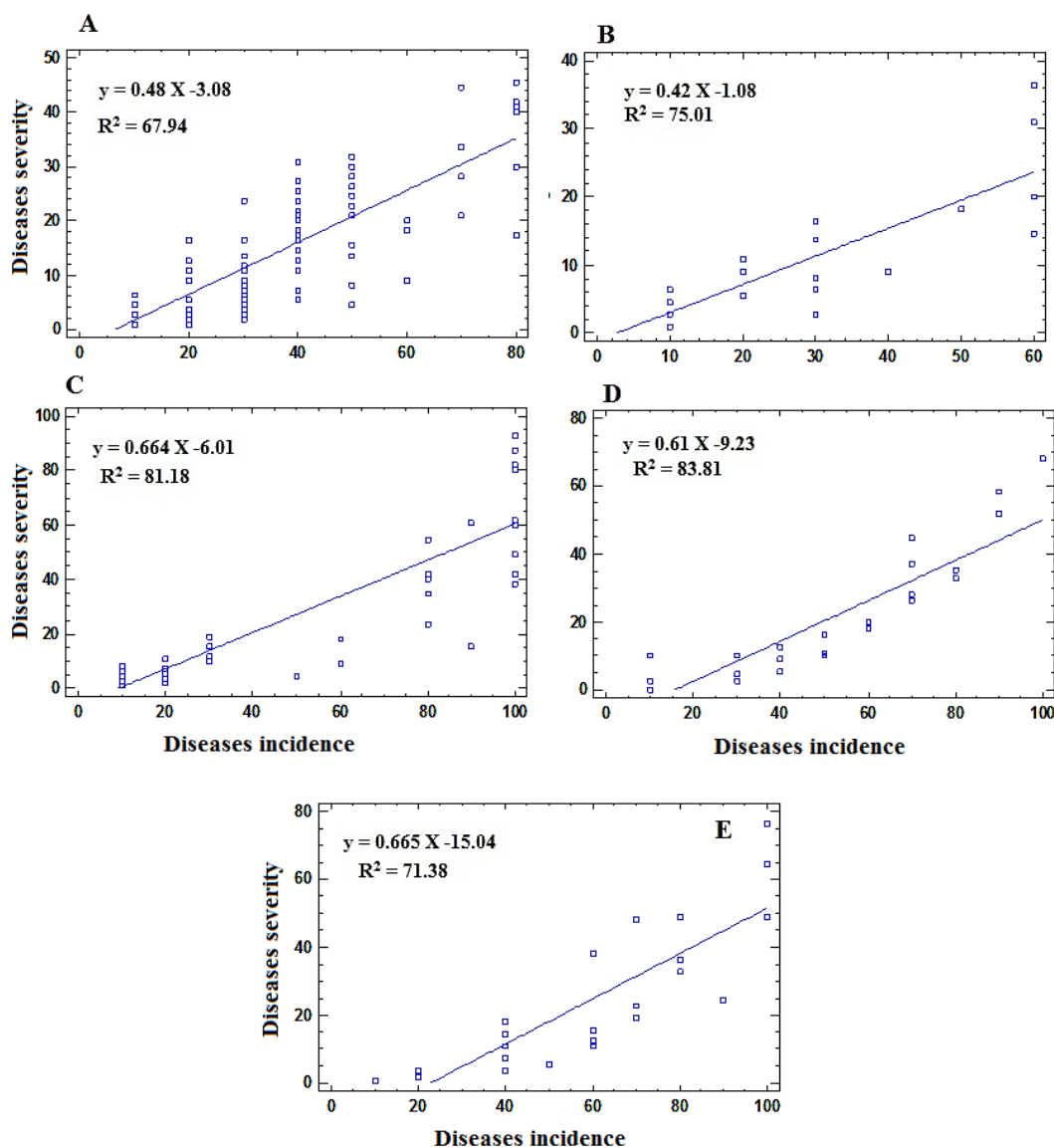


شکل ۲. نمودارهای وقوع در برابر شدت بیماری PVY (مدل خطی) در مناطق مختلف کشت توتون استان گلستان: (A) پیچک‌محله، (B) فاضل‌آباد، (C) قلی‌تپه، (D) پلنگر، (E) تقرتپه و (F) والش‌آباد

Fig. 2. Incidence – severity plot (linear model) of PVY disease in different tobacco cultivation regions: Pichakmahalleh (A), Fazelabad (B), Qolitappeh (C), Palangar (D), Taqartappeh (E), Valeshabad (F).

PVY، مناطق مورد ارزیابی در دو گروه: شیب بین ۰/۴-۰/۳۵ (مناطق والش‌آباد، پیچک‌محله و پلنگر)، شیب ۰/۶-۰/۴۵ (مناطق قلی‌تپه، فاضل‌آباد و تقرتپه) قرار گرفتند (شکل ۲). بر اساس شیب خط رگرسیون مدل خطی، بیشینه و کمینه مقدار شیب خط به ترتیب مربوط به ارقام PVH03، NC100 (۰/۶۵) و رقم بارلی (۰/۴) بود (شکل ۳). ارقام توتون همچنین بر اساس تجزیه‌ی واریانس شیب خط رگرسیون مدل ریشه‌مربع بین شاخص‌های وقوع و

بیماری را در ۵۷/۱۴ درصد مزارع مطالعه شده به درستی (ضریب تبیین متوسط ۸۲/۳۲ درصد) توصیف نماید. بعد از مدل ریشه‌مربع، مدل آلومتری (۲۸/۵۷ درصد) با ضریب تبیین متوسط ۸۸/۹۰ درصد در مزارع ۱، ۱۰، ۱۳ و ۱۵ مدل خطی ساده (۱۴/۲۹ درصد) با ضریب تبیین متوسط ۷۹/۹۰ درصد در مزارع ۵ و ۷ بهترین برازش را جهت بیان روابط بین دو شاخص بیماری PVY داشتند. بر اساس شیب خط رگرسیون خطی بین وقوع و شدت بیماری ناشی از



شکل ۳. نمودارهای وقوع در برابر شدت بیماری PVY (مدل خطی) در ارقام مختلف توتون: (A) باسما، (B) بارلی، (C) NC100، (D) K326 و (E) PVH03

Fig. 3. Incidence – severity plot (linear model) of PVY disease in different tobacco cultivars: Basma (A), Burley (B), NC100 (C), K326 (D), PVH03 (E).

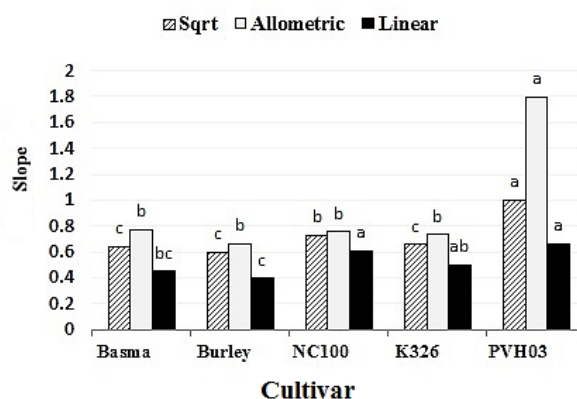
پنج رقم متداول توتون به PVY در پنج بازه زمانی و در مقیاس‌های مختلف مکانی (شهرستان، منطقه، مزرعه و ردیف) مورد ارزیابی قرار گرفت. در طول فصل زراعی، در هر سه شهرستان، بیشترین درصد بوته‌های آلوده به ویروس فاقد علائم (۸۹ از ۱۱۳ بوته‌ی آلوده) مربوط به اولین زمان ارزیابی (۵۷-۵۰ روز پس از تاریخ نشاکاری در

شدت بیماری در سه گروه: PVH03 با شیب بالا (۱/۰۰۵)، رقم NC100 با شیب متوسط (۰/۷۲۹) و رقم K326، بارلی و باسما با شیب کم (۰/۶۸-۰/۶) قرار گرفتند (شکل ۴).

بحث

در این تحقیق شاخص‌های مهم وقوع و شدت بیماری

دوم قرار داشتند. ارقام K326، NC100 و PVH03 نسبت به باسما و بارلی دارای بیشترین میزان وقوع بیماری بودند. در تحقیقات پیشین نیز عکس‌العمل ۲۳ رقم توتون (از جمله K326، بارلی ۲۱ و باسما ۱۷۸-۲) در مزرعه و در شرایط طبیعی وقوع آلودگی‌های ویروسی نسبت به PVY مورد ارزیابی قرار گرفته و علایم مشابه PVY در ارقام مورد بررسی مشاهده شده بود. در بیشتر ارقام از جمله بارلی و باسما علایم از نوع موزائیک (روشنی رگبرگ، رگبرگ‌نواری و نقوش کلروتیک) بوده و علایم نوع بافت-مردگی (بافت‌مردگی رگبرگ‌های اصلی و فرعی و نقوش بافت‌مرده) فقط در ارقام AOB857، AOB656، AOV405، HBT8، Totem203 و K326 مشاهده شده بود (Khateri 2015; Hosseini et al. 2016) که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. در ارقام مختلف سیب‌زمینی، تغییر مقادیر هورمونی (هورمون‌های جاسمونیک اسید (JA)، سالیسیلیک اسید (SA) و سیتوکینین‌ها) در طول دوره آلودگی به PVY، نقش بسیار مهمی در ایجاد طیف وسیعی از علایم موضعی و سیستمیک PVY داشته است (Kovač et al. 2009; Lacomme et al. 2017). احتمالاً در توتون نیز تغییر مقادیر هورمونی یکی از عوامل مهم تغییر شدت علایم PVY در ارقام مختلف است که نیاز به بررسی دارد. بین ارقام مورد ارزیابی در این تحقیق، رقم PVH03 دارای بیشترین مقادیر غلظت نسبی ویروس و شدت علایم بود و نسبت به سایر ارقام توتون، حساسیت بیشتری نسبت به بیماری ناشی از PVY از خود نشان داده است. پروتئین HC-Pro پوتی ویروس‌ها به عنوان یک بازدارنده خاموشی آر ان ا ویروسی (Viral suppressors of RNA silencing, VSRs) بوده و با اثر بازدارندگی روی مجموعه‌ی RISC (RNA-induced silencing complexes) (Giner et al. 2011; Valli et al. 2010)، سبب تغییر بیان به ترتیب ۷۴۸



شکل ۴. مقایسه میانگین شیب مدل‌های مختلف روابط وقوع - شدت بیماری PVY

Fig. 4. Comparison of different model slopes describing the incidence - severity relationships in PVY disease on tobacco cultivars.

رقم باسما (اوایل تیرماه) و ۲۴-۳۰ روز پس از تاریخ نشاکاری در ارقام بارلی، K326، NC100 و PVH03 (اواخر تیرماه)) 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 DS با بیشینه دمای روز بازدید ($r = -0.83$ و $P \leq 0.08$) و روز قبل از بازدید ($r = -88$ و $P \leq 0.048$)، با مقدار بارندگی دو روز قبل از بازدید ($r = 82$ و $P \leq 0.08$) و میانگین درصد رطوبت نسبی روز قبل از بازدید ($r = 80$ و $P \leq 0.01$) (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. در زمان‌های مورد ارزیابی در طول فصل زراعی، به ترتیب بیشینه و کمینه درصد بوته‌های دارای علایم بافت‌مردگی به ترتیب مربوط به ارقام NC100 (۴۵/۴۵ درصد) و بارلی (۹/۰۹ درصد) بود. ارقام K326 و PVH03 با ۲۲/۷۲ درصد علایم بافت‌مردگی در جایگاه

اساس ارزیابی مشاهده‌ای) به نمونه‌های مثبت فاقد علائم در اکثر ارقام مورد مطالعه و تفاوت معنی‌دار شدت علائم مشاهده شده در بوته‌های آلوده به PVY نسبت به بوته‌های منفی در الایزا، ارزیابی مشاهده‌ای می‌تواند در ارزیابی و مطالعه وقوع و شدت بیماری PVY در شرایط مزرعه‌ای کمک کننده باشد.

برای محاسبه شدت بیماری دو حالت مطرح است. اگر هدف از برآورد شاخص شدت بیماری استفاده از آن جهت ارزیابی میزان خسارت بیماری باشد در این حالت شاخص شدت بیماری در کل گیاهان مورد بررسی (بر اساس مقیاس) محاسبه می‌گردد. اما اگر هدف از ارزیابی شدت بیماری ویروسی، مطالعه‌ی ارتباط آن با وقوع ویروس در واحد ارزیابی باشد در این حالت فقط شدت بیماری ظاهر شده در گیاهان بیمار مورد تحلیل قرار می‌گیرد (Sseruwagi et al. 2004). بنابراین در ارزیابی رابطه‌ی بین شاخص شدت بیماری با وقوع آن در واحد مورد بررسی، گیاهان غیر بیمار ($I=0$) حذف می‌گردند (Sseruwagi et al. 2010; Arabi & Jawhar 2010). این دو روش نتایج کاملاً متفاوتی را ارائه می‌دهند. در اکثر مطالعات صورت گرفته در دنیا در شرایط مزرعه‌ای از روش دوم جهت ارزیابی شدت بیماری استفاده شده است و اعتقاد بر این است که در ارزیابی‌های میدانی، این روش یک ارزیابی واقعی از شدت بیماری ویروسی را بر اساس مقیاس مورد استفاده در واحد ارزیابی شده ارائه می‌دهد. در روش اول به دلیل وجود گیاهان غیر بیمار ($I=0$) یک کاهش غیر واقعی در شدت بیماری ایجاد می‌شود که خود سبب بروز خطا و سردرگمی در ارزیابی ارتباط بین شاخص شدت و وقوع بیماری می‌گردد (Sseruwagi et al. 2004; Arabi & Jawhar 2010). در این تحقیق نیز از روش دوم برای محاسبه شاخص شدت بیماری استفاده گردید. استفاده از

و ۳۳۲ ژن در برگ‌ها و گل‌های توتون می‌شود (Soitamo et al. 2011). در آلودگی‌های طبیعی ویروسی، بیان VSRs به بافت‌های آلوده گیاهی و همچنین زمان ارتباط دارد (Burgyán & Havelda 2011). همین امر یکی از دلایل احتمالی تغییر شدت علائم PVY در ارقام مختلف و در زمان‌های متفاوت ارزیابی در تحقیق حاضر می‌باشد. تفاوت در غلظت نسبی ویروس در بین مناطق مختلف (بیشینه و کمینه آن به ترتیب در مناطق فاضل‌آباد و پیچک-محله (جدول ۱) می‌تواند ناشی از عوامل متعددی مانند ژنوتیپ میزبان و مرحله رشدی توتون در زمان بررسی باشد. تفاوت غلظت نسبی ویروس بین ارقام مختلف در این تحقیق و بیشتر بودن آن در ارقام K326 و PVH03 (کشت غالب منطقه فاضل‌آباد) نسبت به رقم NC100 (کشت غالب منطقه پیچک‌محله) در تایید این امر می‌باشد. تنوع ژنوتیپ گیاه میزبان سبب تغییر ریز محیط (Zhu et al. 2005) و رفتار حشره ناقل (Powell 1991) می‌شود. لذا ژنوتیپ میزبان می‌تواند یکی از عوامل مؤثر در همه-گیری این بیماری مطرح باشد.

با وجود اینکه ظهور علائم در گیاهان تحت تأثیر عوامل مختلفی قرار دارد اما همچنان ارزیابی مشاهده‌ای علائم بیماری ویروسی بر اساس مقیاس مشخص، اطلاعات قابل اعتمادی از وقوع آلودگی ویروسی در اکثر مواقع ارائه می‌دهد (Zhou et al. 1997; Pita et al. 2001). در مطالعه همه‌گیری بیماری ویروسی موزائیک کاساوا، نیز با وجود تأثیر عوامل مختلف محیطی و آلودگی مخلوط با سایر ویروس‌ها، ارزیابی مشاهده‌ای همچنان نقش مهمی در مطالعه وقوع و شدت این بیماری در شرایط مزرعه‌ای داشت (Harrison et al. 1997; Pita et al. 2001; Sseruwagi et al. 2004). در این تحقیق نیز با توجه به بالا بودن درصد نمونه‌های مثبت دارای علائم ویروسی (بر

و شدت بیماری به ترتیب در مزارع توتون با میانگین وقوع $I \geq 17\%$ و $I \geq 80\%$ انتخاب شدند.

شیب خط رگرسیون برای روابط وقوع- شدت بیماری در مناطق مختلف، شاخص خوبی برای انعکاس جنبه‌های مهم همه‌گیری شناسی و سبب‌شناسی بیماری می‌باشد. از این معیار برای مقایسه همه‌گیری‌های مختلف و تأثیر تیمارهای مختلف کنترل بیماری استفاده می‌شود (Cardoso et al. 2004). این کمیت، نرخ تغییرات شدت بیماری به ازای افزایش هر واحد در وقوع بیماری را نشان می‌دهد. افزایش مقدار وقوع از انتشار گیاه به گیاه بیمارگر نتیجه می‌شود، اما افزایش شدت، معمولاً در نتیجه افزایش غلظت بیمارگر در یک گیاه ایجاد می‌گردد (Twengstrom et al. 1998; Zadoks 1985). در تحقیق حاضر، براساس شیب خط رگرسیون خطی بین وقوع و شدت بیماری ناشی از PVY، $69/23$ درصد مزارع با شیب خطی $0/48 - 0/25$ ، $15/38$ درصد مزارع با شیب خطی $0/65 - 0/55$ و $15/38$ درصد مزارع با شیب خطی $1/43 - 0/8$ بودند. بر اساس تحلیل‌های صورت گرفته در این تحقیق، مشخص گردید که در بیش از 60 درصد مزارع مقدار بیماری با شیب کمتری (هر یک درصد افزایش در میزان وقوع، معادل $0/4$ - $0/2$ درصد افزایش در شدت بیماری) افزایش یافته است. در حالی که در $30/76$ درصد دیگر شرایط برای بیماری بسیار مساعدتر بوده است و با شیب تقریباً دو برابر مقدار بیماری افزایش یافته است. همچنین براساس شیب خط رگرسیون خطی بین وقوع و شدت بیماری ناشی از PVY، مناطق مورد ارزیابی در دو گروه: شیب بین $0/4 - 0/35$ (مناطق والش‌آباد، پیچک‌محله و پلنگر) و شیب $0/45 - 0/6$ (مناطق قلی‌تپه، فاضل‌آباد و تقرتپه) قرار گرفتند (شکل ۳). مناطق قلی‌تپه، فاضل‌آباد و تقرتپه برای شیوع بیماری ناشی از PVY بسیار مساعدتر سایر مناطق مورد

تبدیل‌های ریاضی و مدل‌های رشد جمعیت درباره داده‌های بیماری‌های گیاهی، روشی معمول در تحلیل‌های آماری به منظور اطمینان از خطی بودن روابط و در نتیجه توزیع یکنواخت خط‌های آزمایش و کاهش واریانس داده‌ها می‌باشد. در مطالعات کاردوسو و همکاران (Cardoso et al. 2004) جهت دستیابی به بهترین رابطه خطی بین میزان وقوع و شدت بیماری سیگاتوکای موز و گموز بادام هندی، پس از آزمودن چندین تبدیل مختلف دریافتند که تبدیل لگاریتمی متغیرها (خانواده مدل‌های آلومتری)، بالاترین ضریب تبیین (R^2) را فراهم می‌کند. در تحقیق حاضر نیز تبدیل لگاریتم طبیعی، بهترین رابطه‌ی خطی بین دو شاخص وقوع و شدت بیماری را در مزارع یک، 10 ، 13 و 15 که بیشترین وقوع بیماری را در بین مزارع داشتند، ایجاد نمود.

تصمیم‌گیری درباره نکویی برآزش مدل‌ها براساس ضریب تبیین، به نوع مطالعه و هدف محقق بستگی دارد. در مورد آزمایش‌هایی که در شرایط کاملاً کنترل شده آزمایشگاهی انجام می‌شوند، ضرایب تبیین "خوب" (99 تا 95 درصد) مورد انتظار می‌باشد، اما در مورد بررسی‌های مزرعه‌ای، ضرایب بالاتر از 60 درصد ($0/6$) ممکن است عالی در نظر گرفته شوند (Campbell & Madden 1990). محاسبه ضریب تبیین، تنها بخشی از فرآیند ارزیابی مدل است زیرا یک مدل با ضریب تبیین بالا نیز ممکن است نامناسب باشد. با استفاده از باقی مانده‌ها، به آسانی می‌توان مناسب بودن یک مدل را تعیین نمود. اگر یک مدل صحیح و مناسب انتخاب شود، توزیع تصادفی نقاط در اطراف خط پیش‌بینی وجود خواهد داشت (Campbell & Madden 1990). براساس این معیار، دو مدل ریشه‌مربع و آلومتری با بهترین توزیع الگوی تصادفی از باقی مانده‌ها، به عنوان بهترین مدل جهت توصیف روابط بین شاخص‌های وقوع

با جمعیت ناقل آن (سفید بالک) به اثبات رسیده است (Sseruwagi et al. 2004). تعامل بین شته‌های ناقل و ویروس‌ها در سطح فیزیولوژیکی، سلولی و مولکولی پیچیده می‌باشد. از طرفی دیگر ویروس‌های بیمارگر گیاهی با ایجاد تغییراتی در فیزیولوژی گیاه میزبان، باعث افزایش جذابیت گیاه برای شته‌های ناقل شده و حتی در برخی موارد منجر به افزایش قدرت باروری شته‌ها می‌شود (Ingwell et al. 2012; Casteel et al. 2014). آلودگی گیاه سیب‌زمینی به PVY، رفتار تغذیه‌ای برخی شته‌ها را تحت تاثیر قرار داده (Boquel et al. 2011, 2012) و به طور مثال باعث افزایش میزان مکش یا بلع شته سبز هلو از شیره آوندی، کاهش زمان گیرش و افزایش انتشار این ویروس می‌شود (Boquel et al. 2011). بنابراین طیف وسیعی از تعاملات تغذیه‌ای سه گانه در سیستم PVY / شته/ میزبان مشاهده می‌شود. در تحقیق حاضر نیز علت افزایش معنی‌دار جمعیت شته‌ها روی بوته‌های آلوده به PVY در توتون نیز احتمالاً به دلیل این تعاملات باشد. به طور کلی وجود همبستگی بین میزان وقوع بیماری و جمعیت شته سبز هلو و شته قرمز توتون، نشان دهنده اهمیت این شته‌ها به عنوان یک عامل مهم و اساسی در میزان وقوع و انتشار این بیماری می‌باشند، لذا مطالعه دقیق‌تر نقش شته‌ها (به خصوص فرم بال دار) در وقوع این بیماری و تغییرات فصلی جمعیت آنها به کمک تله‌های مناسب در مزارع توتون در استان گلستان می‌تواند نقش مهمی در ارائه راهکارهای مناسب مدیریتی برای این بیماری باشد.

در بین ارقام توتون نیز بیشینه و کمینه مقدار شیب خط به ترتیب مربوط به ارقام PVH03 و NC100 (۰/۶۵) و رقم بارلی (۰/۴) بود. نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان می‌دهد که رقم PVH03 نسبت به سایر ارقام توتون

تحقیق بودند. مناطق قلی‌تپه از شهرستان مینودشت (با میانگین ۶/۵۷ تعداد شته در هر بوته)، فاضل‌آباد از شهرستان علی‌آباد (با میانگین ۹/۶۷ تعداد شته در هر بوته) و تقریباً از شهرستان گرگان (با میانگین ۳/۵۵ تعداد شته در هر بوته) بین مناطق مورد بررسی بیشترین جمعیت شته سبز هلو را داشتند. بیشترین همبستگی بین وقوع بیماری ناشی از PVY و جمعیت شته سبز هلو در منطقه فاضل‌آباد (۶۰٪) ارزیابی گردید. بر اساس تحلیل آماری صورت گرفته و مقایسه میانگین جمعیت شته سبز هلو بر اساس وقوع بیماری ناشی از PVY ($I=1$) نسبت به بوته‌های غیر آلوده به PVY ($I=0$)، میانگین جمعیت این شته در بوته‌های آلوده در مناطق فاضل‌آباد و تقریباً به ترتیب ۲۵/۹۷ عدد، و ۱۴/۵۶ عدد با تفاوت معنی‌داری ($P \leq 0.000$) بیشتر از بوته‌های غیر آلوده (۶ عدد و ۰/۶۵ عدد) بود. در قلی‌تپه با وجود معنی‌دار نبودن اختلاف نیز جمعیت این شته در بوته‌های آلوده (۹/۵۴ عدد) بیشتر از بوته‌های غیر آلوده (۶/۲۲ عدد) بود. احتمالاً دلیل افزایش نرخ مقدار بیماری در این مناطق مربوط به بالا بودن جمعیت ناقل بیماری و فعالیت آنها باشد.

در مورد اثر ناقل در انتشار ویروس، زمان داده برداری یک عامل مهم و محدود کننده است به طوری که در طول فصل زراعی یا مراحل مختلف رشدی گیاه، داده‌ها جمع‌آوری و مورد تحلیل آماری قرار می‌گیرد. اما ممکن است لزوماً همبستگی بالایی بین جمعیت ناقل در آن زمان و انتشار ویروس مشاهده نگردد. چون معمولاً چندین هفته بین مایه‌زنی ویروس توسط ناقل و ظهور علائم ویروسی در گیاه میزبان فاصله می‌باشد (Fauquet & Fargette 1990; Sseruwagi et al. 2004). اما با جمعیت ناقل در چند هفته قبل‌تر ارتباط بیشتری مشاهده شود. این حالت در تحقیقات صورت گرفته برای ویروس موزائیک کاساوا

توتون (ویروس موزائیک خیار (*Cucumber mosaic virus*), ویروس خراشک توتون (*Tobacco etch virus*, CMV), ویروس رگه‌ای توتون (*Tobacco streak virus*, TEV) و ویروس رگه‌ای توتون (*Tobacco streak virus*, TSV)) نیز به صورت مقدماتی مورد بررسی قرار گرفت (نتایج چاپ نشده). در بررسی سرولوژیکی ۵۵۰ نمونه از مناطق مختلف، تنها آلودگی ۳/۶۳ درصد بوته‌ها (۲۰ نمونه) به TSV و ۴/۵۴ درصد بوته‌ها به CMV (۲۵ نمونه) مشاهده شد ولی آلودگی به TEV به دست نیامد، در حالی که ۲۱/۲۸ درصد نمونه‌ها (۱۱۷ از ۵۵۰) به PVY آلودگی داشتند. از بین گونه‌های مورد بررسی بیشترین نرخ آلودگی به CMV مشاهده شد، اما نرخ آلودگی به این ویروس به مراتب کمتر از PVY بود که منطبق با گزارش شیوع بیشتر ویروس وای سیب زمینی نسبت به سایر ویروس‌ها در مزارع توتون ایران (Moarefzadeh & Khateri et al. 2004; Khateri 2009) می‌باشد. با توجه به علائم متفاوت TSV در توتون، در ثبت شدت علائم موارد احتمالی ناشی از آلودگی به TSV ثبت نگردید، لیکن علائم محدود بوته‌های آلوده به CMV ممکن است به دلیل شباهت به علائم PVY در داده‌های ثبت شده دخالت داشته باشد اما با توجه به نرخ پایین آلودگی به CMV، خطای ایجاد شده احتمالی قابل چشم پوشی خواهد بود. لذا این نتایج یک تخمین از وقوع آلودگی قابل ردیابی در مزارع و شدت بیماری ایجاد شده است. در این بررسی آلودگی تعداد ۳۶۹۰ نمونه به PVY، توسط الیزا در طول فصل زراعی مورد بررسی قرار گرفته و همچنین در شرایط گلخانه‌ای نیز، پس از خالص‌سازی بیولوژیکی جدایه‌هایی از PVY جدا شده از توتون و مایه‌زنی روی ارقام مورد مطالعه، علائم ویروس در شرایط گلخانه مورد بررسی قرار گرفت. علائم مشاهده شده در شرایط مزرعه‌ای با علائم ویروس در شرایط گلخانه‌ای برای ارقام مورد بررسی

حساسیت بیشتری نسبت به ویروس وای سیب‌زمینی دارد. شیب مدل خطی رابطه بین وقوع و شدت بیماری که بیانگر افزایش شدت بیماری به ازای افزایش یک درصد وقوع بیماری می‌باشد، در ژنوتیپ‌های حساس تا مقاوم بین ۲۶ تا ۵۵ درصد متغیر است. استفاده از مدل‌های موجود جهت درک و اندازه‌گیری روابط بین میزان وقوع و شدت بیماری‌های گیاهی قبل از کاربرد آنها در طیف گسترده‌ای از زمان و مکان ضروری به نظر می‌رسد. نتایج به‌دست آمده از این تحقیق نشان می‌دهد که تنها بر اساس نوع گیاه نمی‌توان در خصوص حساسیت یا مقاومت آن نظر داد. زیرا در گونه‌های مختلف ژنوتیپ‌های حساس و مقاوم وجود دارند که با شرایط هر منطقه واکنش‌های متفاوتی از خود نشان می‌دهند. به طور کلی رقم PVH03 نسبت به سایر ارقام توتون حساسیت بیشتری نسبت به ویروس وای سیب‌زمینی از خود نشان می‌دهد.

جهت ارزیابی شدت بیماری بر اساس مقیاس در پاتوسیستم‌های ویروسی، مقیاس مورد استفاده باید قبل از کار در مزرعه، برای ویروس مورد نظر در رقم یا ارقام مورد مطالعه در شرایط گلخانه‌ای و کنترل شده نیز مورد ارزیابی قرار گیرد. لازم به ذکر است مطالعات همه-گیرشناسی بیماری ناشی از یک ویروس معین در شرایط طبیعی قطعاً کاری دشوار بوده و متفاوت با مطالعات در شرایط گلخانه‌ای و تحت کنترل می‌باشد. آلودگی با بیش از یک ویروس در شرایط مزرعه‌ای و طبیعی امری عادی بوده، لیکن به دلیل تشابه بسیار بالای علائم ناشی از ویروس‌های آلوده کننده و نیز وجود برهمکنش بین ویروس‌ها، امکان تفکیک علائم براساس گونه ویروس غیرممکن می‌باشد. در تحقیق حاضر، ارزیابی در شرایط طبیعی بوده و احتمال حضور ویروس‌های دیگر و میزان آلودگی نمونه‌های جمع‌آوری شده به ویروس‌های رایج

گیری میزان وقوع بیماری به تنهایی نمی‌تواند تصویری واقعی از مقدار بیماری در مزرعه را به دنبال داشته باشد (Aghajani, 2008; Ghasemi et al. 2013; Jeger et al. 2018). در تحقیقات پیشین نیز، شاخص شدت بیماری یک متغیر قابل اعتماد برای نمایش تأثیر شرایط مختلف بر مقدار بیماری معرفی شده است (Cardoso et Paul et al. 2005; al. 2004). با این حال، نتایج این بررسی نشان می‌دهد که این روش نیز به تنهایی برای مقاصد علمی (نظیر همه‌گیری شناسی، مقایسه تیمارهای مختلف کنترل بیماری، تعیین مقاومت ژنوتیپ‌های گیاهی و مدل سازی جهت پیش آگاهی بیماری) کافی نبوده اما می‌تواند بسیار کمک کننده - باشد (Jurke & Fernando 2008). لذا پیشنهاد می‌گردد قبل از انجام هر گونه تحقیقی درباره همه‌گیری شناسی بیماری، بررسی مقاومت ژنوتیپ‌ها و تأثیر روش‌های مختلف کنترل بیماری در یک منطقه، رابطه بین وقوع و شدت بیماری در آن منطقه تعیین گردد. در غیر این صورت، استفاده از داده‌های وقوع بیماری به تنهایی، از صحت و اعتبار کافی برای بیان مقدار بیماری برخوردار نخواهد بود.

مقایسه گردید که تطابق بالایی با هم داشتند و بر این اساس تحلیل روابط این دو متغیر صورت گرفته است. همچنین به منظور کاهش خطای ناشی از این امر، بوته‌های غیرآلوده به PVY ولی دارای علائم‌دار در ارزیابی رابطه‌ی بین شاخص S با I آن حذف شدند. براساس جمیع مطالب مورد اشاره، انتظار می‌رود غالب علائم مشاهده شده در نمونه‌های مورد بررسی مربوط به آلودگی به PVY بوده و نتایج حاصل در این تحقیق با این فرض، قابل ارائه و اطمینان می‌باشد. طبیعی است که مطالعه پیشرفت بیماری در شرایط کنترل شده با استفاده از ناقل بیولوژیک نتایجی با اطمینان بالاتر حاصل می‌شود، اما به هیچ عنوان قابل تعمیم به شرایط طبیعی نمی‌باشد. بالطبع مطالعات همه-گیری شناسی در شرایط طبیعی همیشه همراه با خطاهایی می‌باشد که در ذات این گونه مطالعات بوده و قابل کتمان نخواهد بود، اما نتایج حاصله از ارزش بالایی نیز برخوردار می‌باشد. بر اساس این نتایج مشخص شد که ارزش میزان وقوع یک بیماری همیشه با ارزش شدت آن یکسان نمی‌باشد. به خصوص در ارقام حساس به ویروس، برآورد شدت بیماری از اهمیت بیشتری برخوردار است. اندازه-

منابع

- 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.
- Arabi M.I.E. and Jawhar M. 2010. Interrelationship between incidence and severity of leaf stripe on barley. *Journal of Plant Pathology* 92(2): 503-505.
- Bhyan S.B., Alam M.M. and Ali M.S. 2007. Effect of Plant Extracts on *Okra mosaic virus* Incidence and Yield Related Parameters of Okra. *Asian Journal of Agricultural Research*, 1: 112-118. 10.3923/ajar.2007.112.118.
- Boquel S., Giordanengo P., Ameline A. 2011. Divergent effects of PVY-infected potato plant on aphids. *European Journal of Plant Pathology* 129(4):507-510.
- Boquel S., Delayen C., Couty A., Giordanengo P., Ameline A. 2012. Modulation of aphid vector activity by *Potato virus Yon in vitro* potato plants. *Plant Disease* 96:82-86.
- Burgyán J., Havelda Z. 2011. Viral suppressors of RNA silencing. *Trends Plant Science* 16: 265-272.
- Butt D.J., Royle D.J. 1980. The importance of terms and definitions for a conceptually unified epidemiology pp. 29-45. In: J. Palti and Kranz, J. (Eds). *Comparative Epidemiology. A Tool for Better Disease Management*. Centre for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen.
- Campbell C.L. and Madden L.V. 1990. *Introduction to plant disease epidemiology*. John Wiley, New York, 532 pp.

- Cardoso J.E., Santos A.A., Rossetti A.G. and Vidal J.C. 2004. Relationship between incidence and severity of cashew gummosis in semiarid north-eastern Brazil. *Plant Pathology* 53: 363-367.
- Casteel C. L., Yang C., Nanduri A. C., De Jong H. N., Whitham S. A., Jander G. 2014. The Nla-Pro protein of *Turnip mosaic virus* improves growth and reproduction of the aphid vector, *Myzus persicae* (green peach aphid). *Plant Journal* 77:653–663.
- Chen X.M., Liu J., Xu L., Jiang F., Xie X.Y., Zhu C.X. and Wen F.J. 2010. Inhibiting virus infection by RNA interference of the eight functional genes of the *Potato Virus Y* genome. *Journal of Phytopathology* 158 (11-12): 776-784.
- Clark M.F. and Adams A.N. 1977. Characteristics of the microplate method of Enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology* 34:475-483.
- 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)
- Culbreath A.K., and Srinivasan R. 2011. Epidemiology of spotted wilt disease of peanut caused by *Tomato spotted wilt virus* in the southeastern U.S. *Virus Research* 159:101-109.
- Das Gupta I., Malathi V.G. and Mukherjee S.K. 2003. Genetic engineering for virus resistance. *Current Science* 84: 341-354.
- Döring T.F. 2011. Potential and limitations of plant virus epidemiology: lessons from the *Potato virus Y* pathosystem. *Potato Research* 54:341-354.
- El-Sawy M.M., Elsharkawy M.M., Abass J.M. and Kasem M.H. 2017. Antiviral Activity of 2-Nitromethyl Phenol, Zinc Nanoparticles and Seaweed Extract Against *Cucumber mosaic virus* (CMV) in Eggplant. *Journal of Virology & Antiviral Research* 6: (2).
- Fargalla F.H., Taha A.M. and Fahim M.A. 2011. Epidemiology of *Tomato yellow leaf curl virus* in relation to intercropping and insecticidal spray effects on the *Bemisia tabaci* under field conditions. *Acta Horticulturae* 331- 336.
- Fauquet C. and Fargette D. 1990. African cassava mosaic virus: etiology, epidemiology and control. *Plant Disease* 74: 404–411.
- Gao S.J., Xia L.J., Liu Y. and Xie D.H. 2015. A plant virus disease model with periodic environment and pulse roguing. *Studies in Applied Mathematics* 136:357-381.
- Ghasemi M., Aghajani M. A., Faraji A. and R. Saidinejad M. 2013. Relationship between Incidence and severity of *Alternaria* blight disease on different species of brassica in Gonbad region. *Iranian Journal of Plant Pathology* 49(1): 17-19.
- Giner A., Lakatos L., García-Chapa M., López-Moya J. J., Burguán J. 2010. Viral protein inhibits RISC activity by Argonaute binding through conserved WG/GW motifs. *A Peer-Reviewed Open-Access Journal* 6, e1000996.
- Guan J. and Nutteer F.W. J. R. 2003. Quantifying the inter-rater repeatability and inter-rater reliability of visual and remote-sensing disease-assessment methods in the alfalfa foliar pathosystem. *Canadian Journal of Plant Pathology* 25:143-149.
- Harrison B.D., Zhou X., Otim-Nape G.W., Liu Y., Robinson D. J. 1997. Role of a novel type of double infection in the geminivirus-induced epidemic of severe cassava mosaic in Uganda. *Annals of Applied Biology* 131: 437–448.
- 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.
- Ingwell L. L., Eigenbrode S. D., Bosque-Perez N. A. 2012. Plant viruses alter insect behavior to enhance their spread. *International Journal of Scientific Reports* 2:578.
- James W.C. 1971. A manual of disease assessment keys for plant diseases. Canadian Department of Agricultural Publication 1450, 50p.
- Jeger M. J., van den Bosch F., Madden L.V. and Holt J. 1998. A model for analysing plant-virus transmission characteristics and epidemic development. *IMA journal of Mathematics Applied in Medicine and Biology* 15:1-18.

- Jeger M.J., Madden L.V. and van den Bosch F. 2018. Plant Virus Epidemiology: Applications and Prospects for Mathematical Modeling and Analysis to Improve Understanding and Disease Control. *Plant Disease* 102: 837-854.
- Jurke C.J. and Fernando W.G.D. 2008. Effects of seeding rate and plant density on sclerotinia stem rot incidence in canola. *Arch. Phytopat. Plant Protec* 41:142-155.
- Kerlan C. 2006. *Potato virus Y*. Descriptions of plant viruses, no. 414p. (<http://www.dpvweb.net/dpv/showdpv.php?dpvno=414>)
- Khateri H., Moarefzadeh N., Kohi-Habibi M., Mosahebi-Mohammadi Gh. and Hosseini A. 2004. Identification of viral diseases on commercial tobacco varieties in Mazandaran and Golestan regions, Research workbook of Plant protection department of Tirtash Research and Education Center.
- 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. 2014. Epidemiology and enhance control of *Potato virus Y* in high grade seed potato production. Doctoral thesis in plant pathology, Faculty of Agriculture and Forestry, Department of Agricultura Sciences of the University of Helsinki. 167pp.
- Kovač M., Muller A., Milovanović J.D., Milavec M., Duchting P., Ravnikar M. 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., Glais L., Kerlan C., Verrier J.L. and Jacquot E. 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* 59 (6): 1133-1143.
- Lacomme C., Pickup J., Fox A., Glais L., Dupuis B., Steinger T., Rolot J.L., Valkonen J.P.T., Kruger K., Nie X., Modic S., Mehle N., Ravinkar M. and Hulle M. 2017. Transmission and Epidemiology of *Potato virus Y*, pp. 141-176. In: C. Lacomme, L. Glais, D.U. Bellsted, B. Dupuis, A.V. Karasev and E. Jaquot (Eds). *Potato virus Y*: biodiversity, pathogenicity, epidemiology and management Published by Springer Nature.
- Legg J.P., Jeremiah S.C., Obiero H.M., Maruthi M.N., Ndyetabula I., Okao-Okuja G., Bouwmeester H., Bigirimana S., Tata-Hangy W., Gashaka G., Mkamilo G., Alicia T. and Kumar P.L. 2011. Comparing the regional epidemiology of the cassava mosaic and cassava brown streak virus pandemics in Africa. *Virus Research* 159:161-170.
- Luo Y.L., Gao S.J., Xie D.H. and Dai Y.F. 2015. A discrete plant disease model with roguing and replanting. *Adv. Difference Equns*. Article number 12.
- Madden L.V., Jeger M.J. and van den Bosch F. 2000. A theoretical assessment of the effects of vector-virus transmission mechanism on plant virus disease epidemics. *Phytopathology* 90:576-594.
- McRoberts N., Hughes G. and Madden L. V. 2003. The theoretical basis and practical application of relationships between different disease intensity measurements in plants. *Annals of Applied Biology* 142: 191-211.
- Moarefzadeh N. and Khateri H. 2009. Evaluation of burley tobacco varieties against of *Potato virus Y*, Research workbook of Plant protection department of Tirtash Research and Education Center.
- Paul P.A., Lipps P.E. and Madden L.V. 2005. Relationship between visual estimates of Fusarium head blight intensity and deoxynivalenol accumulation in harvested wheat grain: A meta-analysis. *Phytopathology* 95:1225-1236.
- Pita J.S., Fondong V.N., Sangaré A., Kokora R.N.N., Fauquet C.M. 2001. Genomic and biological diversity of the *African cassava geminiviruses*. *Euphytica* 120: 115-125.
- 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.
- Rossel H.W., Asiedu R., Dixon A.G.O. 1992. Resistance of cassava to *African cassava mosaic virus*: what really pertains. *Tropic. Root Tuber Crops Bull* 6 (1): 2.
- Sseruwagi P., Sserubombweb W.S., Legg J. P., Ndunguru J., Thresh J. M. 2004. Methods of surveying the incidence and severity of cassava mosaic disease and whitefly vector populations on cassava in Africa: a

- review. *Virus Research* 100: 129–142.
- Schwanck A.A., Del Ponte E.M. 2014. Accuracy and reliability of severity estimates using linear or logarithmic disease diagram sets in true colour or black and white: a study case for rice brown spot. *Journal of Phytopathology* 162: 670–682.
- Soitamo A. J., Jada B., Lehto K. 2011. HC-Pro silencing suppressor significantly alters the gene expression profile in tobacco leaves and flowers. *BMC Plant Biology* 11: 68.
- 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.
- Twengstrom E., Sigvald R., Svensson C. and Yuen J. 1998. Forecasting sclerotinia stem rot in spring sown oilseed rape. *Crop Protection* 17: 405-411.
- Valli A., Oliveros J. C., Molnar A., Baulcombe D., Garcia J. A. 2011. The specific binding to 21-nt double-stranded RNAs is crucial for the anti-silencing activity of cucumber vein yellowing virus P1b and per-turbs small RNA populations. *RNA* 17: 1148–1158.
- Velasco L., Simon B., Janssen D. and Cenis J.L. 2008. Incidence and progression of *Tomato chlorosis virus* disease and *Tomato yellow leaf curl virus* disease in tomato under different greenhouse covers in southeast Spain. *Annals of Applied Biology* 153:335-344.
- Verrier J.L., Marchand V., Cailleteau B. and Delon R. 2001. Chemical change and cigarette smoke mutagenicity increase associated with CMV and PVY infection in Burley tobacco. CORESTA Agronomy-Phytopathology Meeting, Cape Town, South Africa. P1.
- Zadoks J.C. 1985. On the conceptual basis of crop loss assessment: The threshold theory. *Annual Review of Phytopathology* 23:455-473.
- Zhou X., Liu Y., Calvert L., Munoz C., Otim-Nape G.W., Robinson D.J., Harrison B.D., 1997. Evidence that DNA-A of a geminivirus associated with severe cassava mosaic disease in Uganda has arisen by interspecific recombination. *Journal of General Virology* 78: 2101–2111.
- Zhu Y. Y., H. Fang. Y. Y. Wang. J. X. Fan., Yang S. S. 2005. Panicle and canopy moisture in rice cultivar mixtures. *Phytopathology* 95: 433–438.