



معرفی میزبان جدید برای ویروس موزاییک آرابیس در ایران

سمیرا شاملی^{۱*} و نوح شهرآیین^۲

۱- محقق، بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی ۲- دانشیار، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی

چکیده

سویا گیاهی متعلق به تیره بقولات و از مهم‌ترین دانه‌های روغنی در جهان است که به منظور تولید دانه روغنی و علوفه کشت می‌شود. شناسایی دقیق عوامل بیماری‌زا به‌عنوان ابزاری مهم در مدیریت بهینه بیماری‌ها و جلوگیری از بروز خسارت‌های اقتصادی الزامی می‌باشد. به همین منظور و با توجه به بروز علائم بیماری‌های ویروسی در مزارع سویا در استان گلستان، نمونه‌برداری از مناطق سویاکاری استان طی سال‌های ۱۳۹۵ تا ۱۳۹۷ انجام شد و ۲۳۰ نمونه برگ براساس علائمی مثل زردی و کوتولگی، تغییر شکل، بدشکلی، نکروز و کلروز، و پیچش برگ جمع‌آوری گردید. حضور نپوویروس‌های مهم (لکه حلقوی توتون، لکه حلقوی گوجه‌فرنگی و موزاییک آرابیس) توسط آزمون‌های سرولوژیکی و مولکولی بررسی گردید. براساس نتایج به دست آمده، بالاترین میزان آلودگی در نمونه‌های سویا مربوط به ویروس موزاییک آرابیس با ۳۰/۴ درصد آلودگی بود. میزان آلودگی به ویروس‌های لکه حلقوی توتون و لکه حلقوی گوجه‌فرنگی به ترتیب ۸/۷ و ۵/۶۵ تعیین گردید. ویروس‌های لکه حلقوی توتون و لکه حلقوی گوجه‌فرنگی قبلاً از مزارع سویا گزارش شده بودند اما این اولین گزارش از حضور ویروس موزاییک آرابیس در گیاه سویا در استان گلستان و ایران می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: سویا، ویروس، الیزا، پی‌سی‌آر، استان گلستان، ایران

بیان مسئله

سویا (*Glycine max* L.) گیاهی یک‌ساله و دولپه متعلق به راسته Rosales، تیره Fabaceae و از مهم‌ترین محصولات دانه روغنی در جهان است. آفات و بیماری‌های گیاهی از عوامل مهم محدود کننده زراعت سویا می‌باشند که می‌توانند سبب کاهش حدود ۱۰ تا ۳۰ درصد محصول شوند (سینکلر و بکمن، ۱۹۸۹). در این میان بیماری‌های ویروسی سویا در برخی مناطق تهدیدی جدی و اقتصادی برای تولید سویا به شمار می‌روند که رشد و عملکرد را تحت تأثیر قرار داده بدون این‌که به طور گسترده‌ای شناخته شوند. کاهش عملکرد ناشی از ویروس‌ها در گیاه سویا بسته به نوع رقم گیاه، ویروس آلوده کننده و مرحله رشدی سویا در زمان آلودگی، تا بیش از ۵۰ درصد برآورد گردیده است. کنترل و کاهش خسارت ناشی از ویروس‌ها، مستلزم داشتن اطلاعات کافی در خصوص ماهیت و میزان گسترش آن‌ها می‌باشد. مهم‌ترین ویروس‌های گیاهی که به طور طبیعی یا بر اثر مایه کوبی روی سویا دیده می‌شوند، توپاموویروس‌ها، پوتی ویروس‌ها، نیپوویروس‌ها، آیلارویروس‌ها و کوموویروس‌ها می‌باشند.

معرفی دستاورد (راهکار)

نیپوویروس‌ها گروهی از ویروس‌های گیاهی هستند که در سراسر جهان گسترش داشته و دارای میزبان‌های طبیعی زیادی در بین گیاهان زراعی، گیاهان زینتی و غیرزینتی، درختان میوه و علف‌های هرز می‌باشند. نیپوویروس‌ها متعلق به راسته Picornavirales خانواده‌ی Secoviridae و زیرخانواده Comovirinae هستند. اکثر اعضای گروه نیپوویروس‌ها توسط نماتد، شیره گیاهی، بذر و دانه منتقل می‌شوند هرچند انتقال توسط آفات مکنده و کنه نیز در برخی از نیپوویروس‌ها گزارش شده است (فاجز و همکاران، ۲۰۱۷) (شکل ۱).



شکل ۱- مهم‌ترین ناقلین نیپوویروس‌ها. (a) *Xiphinema index* ، (b) *Thrips tabaci* ، (c) *Epitrix hirtipennis* ، (d) *Cecidophyopsis ribis*

با توجه به بروز علایم بیماری‌های ویروسی در مزارع سویا در استان گلستان و به منظور بررسی حضور نیپوویروس‌های مهم (ویروس لکه حلقوی توتون، لکه حلقوی گوجه فرنگی و موزاییک آرابیس)، نمونه‌برداری از مناطق سویاکاری استان گلستان طی سال‌های ۹۷-۹۵ انجام شد و ۲۳۰ نمونه برگی برحسب علائمی مثل زردی و کوتولگی، تغییرشکل، بدشکلی، نکروز و کلروز، و پیچش برگ انتخاب و جمع‌آوری گردید. هر نمونه از بوته‌ی جداگانه جمع‌آوری شد و کلیه اطلاعات مربوط به تاریخ جمع‌آوری، محل نمونه‌برداری، و نوع علایم ثبت گردید. نمونه‌ها بلافاصله در کیسه‌های مجزا و در شرایط خنک (در مجاورت یخ) جهت بررسی به آزمایشگاه منتقل گردید و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. تعداد ۲۳۰ نمونه سویا با روش الیزای مستقیم و با استفاده از آنتی‌سرم چندهمسانه‌ای نیپوویروس‌ها بر پایه روش کلارک و آدامز (۱۹۷۷) و طبق پروتکل شرکت تولیدکننده آنتی‌بادی (شرکت بایوربا، سوئیس) مورد آزمون قرار گرفت. چگالی نوری چاهک‌ها بر اساس تغییر رنگ چاهک‌ها با استفاده از دستگاه الیزا خوان بایورد مدل EL ۸۰۰ و در طول موج ۴۰۵ اندازه‌گیری گردید و با توجه به میزان جذب شاهد منفی، آستانه جذب چاهک‌های آلوده با استفاده از فرمول $X+3SD$ تعیین شد. جهت تایید حضور ویروس، استخراج RNA کل با استفاده از کیت RNase Plant Mini Kit (کیاژن، آلمان) انجام شد. ساخت DNA مکمل (cDNA) در آزمون نسخه‌بردار معکوس با استفاده از RNA تیمار شده با DNaseI، آنزیم MmuLV شرکت فرمنتاز و آغازگر اختصاصی برگشتی ویروس انجام شد. cDNA ساخته شده به عنوان الگو در واکنش پی‌سی‌آر مورد استفاده قرار گرفت.

بر اساس نتایج به‌دست آمده بالاترین میزان آلودگی در نمونه‌های سویا مربوط به ویروس موزاییک آرابیس با ۳۰/۴ درصد آلودگی بود. میزان آلودگی به ویروس‌های لکه حلقوی توتون و لکه حلقوی گوجه‌فرنگی به ترتیب ۸/۷ و ۵/۶۵ تعیین گردید. حضور ویروس‌های لکه حلقوی توتون و لکه حلقوی گوجه‌فرنگی قبلاً از مزارع سویا گزارش شده بود اما این اولین گزارش از حضور ویروس موزاییک آرابیس در گیاه سویا در استان گلستان و ایران می‌باشد. در همه شهرستان‌های نمونه‌برداری شده استان ویروس موزاییک آرابیس شناسایی گردید و بیشترین میزان آلودگی در رقم کنترل مشاهده شد که با توجه به سطح کشت بالاتر این رقم در سطح استان، آلودگی بیشتر این رقم دور از ذهن نبود. مایه‌کوبی ویروس موزاییک آرابیس بر روی بوته‌های سویا در دو رقم سامان و کنترل در شرایط گلخانه، سبب کلروز و کوتاه شدن بوته‌های سویا گردید (شکل ۲).

ویروس موزاییک آرابیس یکی از اعضای جنس نیپوویروس‌ها است که از پراکنش وسیعی در آسیا، آمریکا، آفریقا، استرالیا، و کانادا برخوردار بوده و در بیش از ۹۳ گونه گیاهی شامل گیاهان زینتی (رز، زنبق، زعفران، میخک، آلستومریا، بگونیا و گل نرین)، درختان میوه (هسته‌دار و انگور) و گیاهان زراعی (چغندرقد، خیار، کاهو، کرفس، تمشک، توت‌فرنگی، ریواس، رازک و شبدرسفید) ایجاد آلودگی می‌کند (رخشنده‌رو و همکاران، ۲۰۰۵). این ویروس به سهولت به وسیله بذر، پیوند و نامادهای Longidoridae و گروهی از Arthropodes منتقل می‌شود (دیگاری و همکاران، ۲۰۰۶).



شکل ۲- علائم ایجاد شده در بوته سویا در اثر مایه کوبی با ویروس موزاییک آرابیس (شکل چپ) در مقایسه با گیاه شاهد (شکل راست)

متداول‌ترین علائم ناشی از ویروس موزاییک آرابیس، کاهش رشد و کوتولگی بوته‌ها، بدشکلی و لکه‌دار شدن برگ‌ها، و تغییر شکل بوته‌ها می‌باشد (شکل ۳). شدت علائم بسته به گیاه میزبان، سویه ویروس، رقم، فصل و سال متفاوت است. با توجه به این‌که در بسیاری از گیاهان آلوده به ویروس موزاییک آرابیس علائم به صورت نهان است (فدایی و خیری، ۲۰۰۳) و همچنین علائم ایجاد شده توسط ویروس‌های مختلف در یک گیاه می‌تواند بسیار شبیه هم باشد، بنابراین شناسایی دقیق ویروس موزاییک آرابیس نیازمند روش‌های تشخیص سرولوژی و مولکولی مانند RT-PCR است.

ویروس موزاییک آرابیس در ایران از پراکندگی بالایی برخوردار است و از گیاهان زینتی، انگور و گوجه فرنگی از استان‌های مختلف گزارش شده است (دوست صدیق و همکاران، ۱۳۹۰) اما از میزان خسارت حاصل از این ویروس در محصولات مختلف اطلاعات دقیقی در دست نیست. گسترش شدید ویروس می‌تواند سبب ایجاد خسارت‌های فراوان به محصولات گردد (جونز و همکاران، ۱۹۸۹).



شکل ۳- بوته‌های سویای آلوده به ویروس موزاییک آرابیس. علائم به صورت بدشکلی برگ و ایجاد لکه‌های روشن روی سطح برگ مشاهده می‌گردد.

توصیه ترویجی

خسارت حاصل از بیماری‌های ویروسی بسته به زمان آلودگی و شدت بیماری بسیار متفاوت است و به همین دلیل در برنامه‌های مدیریت بیماری‌ها، همواره تشخیص و ردیابی سریع عوامل ویروسی در محصولات از اهمیت بالایی برخوردار بوده و اولین قدم جهت انتخاب استراتژی‌های مناسب کنترل می‌باشد. با توجه به سابقه حضور و دامنه میزبانی گسترده ویروس موزاییک آرابیس در ایران و فعالیت ناقلین ویروس (نماتدها و آفات مکنده)، ردیابی و بررسی میزان پراکنش ویروس ضروری به نظر می‌رسد. رعایت اصول صحیح مدیریت مزارع مانند تغذیه مناسب، کنترل علف‌های هرز حاشیه مزارع و مدیریت صحیح آفات مکنده (به عنوان ناقلین ویروس‌ها) در کلیه مراحل رشدی گیاه به خصوص در مرحله رشد زایشی در جلوگیری از گسترش ویروس‌ها موثر است. مبارزه شیمیایی با آفات مکنده باید براساس بازدیدهای فنی کارشناسان و با استفاده از سموم مناسب توصیه شده صورت گیرد (برخی از سموم مناسب جهت مدیریت آفات مکنده در جدول شماره ۱ قید شده است).

جدول ۱- برخی از سموم مناسب جهت کنترل آفات مکنده در مزارع سویا

نوع آفت	نوع سموم	میزان مصرف
سنگ	اکسی دیمتون متیل	۱ لیتر
	ایمیداکلوپرید	۲۵۰ سی‌سی
تریپس، شته	اکسی دیمتون متیل	۱ لیتر
و سفید بالک	دیمتوات	۱ لیتر
کنه	پروپارزیت	۱/۵ لیتر
	بروموپروپیلات	۱/۲ لیتر

منابع

- هاجر دوست صدیق، ه.، رخشنده رو، ف.، و شمس بخش، م. ۱۳۹۰. پراکنش ویروس موزاییک آرابیس (ArMV) در تاکستان‌ها و رزکاری های استان‌های آذربایجان غربی و شرقی، ۱۳۹۰، گیاه پزشکی (مجله علمی کشاورزی). جلد ۳۴ شماره ۲.
- Clark, M.F., and Adams, A.N. 1977. Characterization of the microplate methods of enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology*, 34: 475-483.
- Digiario, M., Elbeaino, T., and Martelli, G.P. 2006. Development of degenerate and species – specific primers for the differential and simultaneous RT-PCR detection of grapevine – infecting nepoviruses of subgroups A, B and C. *Journal of Virological Methods*, 141: 34 -40.
- Fadaei, A.A., and Kheiri, A. 2003. Three species of the *Xiphinema americanum* lineage (Nematoda: Longidoridae) from Iran. *Nematology*, 5: 453-46
- Fuchs, M., Schmitt-Keichinger, C. and Sanfacon, H. 2017. A Renaissance in Nepovirus Research Provides New Insights into Their Molecular Interface with Hosts and Vectors. *Advance in Virus Research*, 97:61-105
- Jones, A.T., Mitchell, M.J., and Brown, D.J.F. 1989. Infectibility of some new raspberry cultivars with *Arabis mosaic virus* and further evidence for variation in British isolates of this Nepovirus. *Annals of Applied Biology*, 113: 483-491.
- Langham M.A.C., and C.L. Strunk. 2013. Viral diseases in soybeans. In Clay, D.E., C.G. Carlson, S.A. Clay, L. Wagner, D. Deneke, and C. Hay (eds). *iGrow Soybeans: Best Management Practices for Soybean Production*. South Dakota State University, SDSU Extension, Brookings, SD
- Rakhshandehroo, F., Pourrahim, R., Zamani Zadeh, H., Rezaee, S. and Mohammadi, M. 2005. Incidence and distribution of viruses infecting Iranian vineyards. *Journal of Phytopathology*, 153: 480 -484
- Sinclair, J. B., and Backman, P. A. 1989. Compendium of soybean diseases. *American Phytopathological Society*. St Paul, Minnesota, 19-21.