



مجله پژوهش‌های تولید گیاهی

مجله پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد نوزدهم، شماره سوم، ۱۳۹۱
<http://jopp.gau.ac.ir>

وضعیت آلودگی ارقام مهم سویا به ویروس لکه حلقوی توتون در استان گلستان

*سمیرا شاملی^۱، سعید نصراله نژاد^۲ و مجید هاشمی^۳

^۱دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشگاه آزاداسلامی واحد دامغان، دانشیار گروه گیاهپزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ^۲موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج

چکیده

به‌منظور ردیابی سرولوژیکی ویروس لکه حلقوی توتون (TRSV) در یکی از مهم‌ترین مناطق کاشت سویای کشور، استان گلستان، در سال زراعی ۱۳۸۷ از بوته‌های مشکوک ارقام دی‌پی‌ایکس، گرگان ۳، ویلامز، پرشینگ و جی‌کا که علائم بدشکلی برگ، کوتولگی بوته، نکروز و سوختگی جوانه انتهایی را نشان می‌دادند، نمونه‌برداری شد. نمونه‌ها از نظر میزان آلودگی به ویروس TRSV با روش DAS-ELISA و با استفاده از آنتی بادی اختصاصی مورد آزمون قرار گرفتند. وجود ویروس در استان تایید و میزان آلودگی متفاوتی در ارقام مختلف سویا اثبات گردید. رقم دی‌پی‌ایکس با ۵۰ درصد آلودگی و ارقام جی‌کا و گرگان ۳ بدون آلودگی، به‌ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین میزان آلودگی را دارا بودند. جهت بررسی پراکنش ویروس در استان، آلوده‌ترین رقم، دی‌پی‌ایکس، انتخاب و توزیع فراوانی‌های مشاهده شده بر اساس یک طبقه‌بندی دو حالتی (از نظر آلودگی و یا عدم آلودگی به‌ویروس TRSV) با استفاده از جدول توافقی χ^2 ، در سطح اطمینان $\alpha=0/05$ انجام شد. متوسط میزان آلودگی ۱۰ درصد گزارش گردید. نتایج پژوهش اختلاف معنی‌دار بین میزان آلودگی در چهار ناحیه از استان گلستان شامل ناحیه غربی (شهرستان‌های بندرگز و کردکوی)، مرکزی (شهرستان علی‌آباد)، شرقی (آزادشهر و مینودشت) و گرگان (دارای بیش‌ترین سطح کشت) نشان داد. ناحیه غربی با ۲۱/۵ درصد و ناحیه مرکزی بدون آلودگی به‌ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین میزان آلودگی را دارا بودند.

واژه‌های کلیدی: استان گلستان، سویا، ویروس لکه حلقوی توتون، سرولوژی، پراکنش

*مسئول مکاتبه: shameli61@gmail.com

مقدمه

سویا (*Glycine max* (L. گیاهی متعلق به راسته Rosales، تیره Fabaceae و زیرتیره Papilionaceae بوده و یکی از مهم‌ترین محصولات دانه‌های روغنی در جهان می‌باشد. اهمیت این محصول به جهت روغن‌گیری و استفاده از تفاله آن جهت خوراک دام می‌باشد (آلباری و همکاران، ۲۰۰۰).

بیماری‌های سویا در بیش‌تر مناطق دنیا باعث کاهش حدود ۱۰ تا ۳۰ درصد محصول می‌شوند. این گیاه میزبان طبیعی برای ۳۳ ویروس مهم گیاهی می‌باشد (هارتمن و همکاران، ۱۹۹۹) به‌نحوی که در سال ۲۰۰۲، بیماری‌های ویروسی در آمریکا باعث کاهش بیش از ۷۶۰۰۰۰ تن از محصول سویا گردید (رادر و همکاران، ۲۰۰۳).

ویروس لکه حلقوی توتون^۱، از جنس *Nepovirus* و خانواده *Comoviridae* یکی از مهم‌ترین ویروس‌های سویا بوده که دارای گسترش جهانی است و عملکرد محصول را تا حد زیادی کاهش می‌دهد (سوتیک و همکاران، ۱۹۹۹). خسارت این ویروس در کشورهای مختلف بین ۲۵ تا ۱۰۰ درصد به محصول سویا گزارش شده است (هارتمن و همکاران، ۱۹۹۹).

TRSV اولین بار توسط ساسون و نیکل (۱۹۴۲) از ایالات متحده آمریکا گزارش شد و در حال حاضر در بیش‌تر کشورهای دنیا وجود دارد (دمسکی و کان، ۱۹۸۹؛ گلنراقی و همکاران، ۲۰۰۴). ویروس از دامنه میزبانی وسیعی برخوردار بوده و گیاهان ۱۷ تیره دولپه و تک لپه به آن حساسند (معینی و ایزدپناه، ۲۰۰۳). این ویروس تا کنون از سویا (شکیبا و همکاران، ۲۰۰۶)، توت سیاه (کینات، ۲۰۰۸) توتون و گوجه فرنگی (شیلدر، ۲۰۰۹)، تربچه، دافنه و انگور (وارد و همکاران، ۲۰۰۹)، لوبیا، کنجد، کاهو، نخود، تمشک، شمعدانی، گلابول، گیلاس و سیب (برانت و همکاران، ۱۹۹۶) گزارش شده است. همانند سایر نپوویروس‌ها، دارای دامنه وسیعی از ناقلین شامل تریپس (مسیحا، ۱۹۶۹)، زنجره (هیل، ۲۰۰۳)، شته (کلارک و پری، ۲۰۰۲) و نماتود (دوتیت و مک گویر، ۱۹۷۸) بوده و توسط بذرو شیره گیاهی نیز منتقل می‌گردد (بشیر و همکاران، ۲۰۰۰). ویروس در سطح بالای ۱۰ درصد بذرزاد است (معینی و ایزدپناه، ۲۰۰۳) و بذرهای آلوده می‌توانند ویروس را با نرخ ۹۳ تا ۱۰۰ درصد منتقل نمایند (هارتمن و همکاران، ۱۹۹۹). **TRSV** می‌تواند توسط ادوات کشاورزی هم منتقل شود

1 -Tobacco ring spot virus

کاتوج و همکاران، ۲۰۰۳). تو (۱۹۸۶) در بخش جنوبی کانادا و برای (۲۰۰۵) در ایالات متحده میزان انتشار TRSV را مورد بررسی قرار دادند.

در ایران، ویروس لکه حلقوی توتون اولین بار در سال ۱۳۶۴ توسط رحیمیان و همکاران (۱۹۹۵) بر روی محصول سویا در استان مازندران گزارش گردید و پس از آن بر روی کدو و سیب‌زمینی در استان اصفهان، گلایول در شیراز، انگور در استان زنجان و سویا در استان‌های لرستان، اردبیل و خوزستان گزارش شد (رحیمیان و همکاران، ۱۹۹۵؛ گلنراقی و همکاران، ۲۰۰۴؛ رخشنده رو و همکاران، ۲۰۰۵). رحیمیان و همکاران (۱۹۹۵) نقش عوامل پروکاریوت، ویروسی و ویروئیدی را در بروز عارضه اختلال در غلاف‌بندی سویا مورد بررسی قرار دادند و احتمال وجود ویروس لکه حلقوی توتون را مطرح ساختند (رحیمیان و همکاران، ۱۹۹۵).

استان گلستان یکی از مهم‌ترین مناطق کشت سویا در کشور بوده و حدود ۵۰ درصد سطح زیرکشت کشور را به خود اختصاص داده است (میرزایی، ۲۰۰۴). با توجه به سطح زیر کشت، اهمیت اقتصادی این محصول و عدم شناسایی ویروس لکه حلقوی توتون در ارقام جدید سویا در این استان، در پژوهش حاضر ضمن تشخیص سرولوژیکی ویروس در ارقام مختلف، پراکنش ویروس در مناطق مختلف استان مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

به‌منظور شناسایی ویروس لکه حلقوی توتون در استان گلستان، طی تابستان ۱۳۸۷، از مزارع سویای استان بازدیدهایی صورت گرفت. علائم ظاهری ویروس شامل تغییر شکل و سوختگی جوانه، نکروز جوانه‌های انتهایی، کوتولگی بوته‌ها و تجمع غلاف‌های رشد نیافته مورد بررسی قرار گرفت. از بوته‌های مشکوک ارقام دی‌پی‌ایکس، گرگان ۳، ویلامز، پرشینگ و جی‌کا نمونه‌برداری شد. تعداد ۱۸۰ نمونه با روش^۱ DAS-ELISA و با استفاده از آنتی سرم چند همسانه‌ای ویروس TRSV بر پایه روش کلارک و آدامز (۱۹۷۷) و طبق پروتکل شرکت تولیدکننده آنتی سرم (DSMZ آلمان) مورد آزمون قرار گرفتند. انجام آزمون الایزا جهت ردیابی ویروس طبق پروتکل شرکت تولیدکننده آنتی سرم به شرح زیر صورت گرفت:

1- Double Antibody Sandwich Elisa

ایمنوگلوبولین (IgG-TRSV) با بافر پوششی به نسبت ۱:۱۰۰۰ ($\mu\text{l/ml}$) مخلوط و در هر ظاهک ۱۰۰ میکرولیتر از آن ریخته شد. پس از افزودن عصاره برگ به پلیت الایزا، آنتی بادی متصل به آنزیم آلکالین فسفاتاز (IgG-AP) با بافر کانجوگیت به نسبت ۱:۱۰۰۰ رقیق و به چاهک اضافه گردید. جهت تغییر رنگ چاهک‌ها از سوبسترای نیترو فینیل فسفات (PNPP) استفاده شد. در این روش، سه مرحله شستشوی پلیت با بافر PBS-Tween انجام گردید. چگالی نوری چاهک‌ها بر اساس تغییر رنگ حفرات با استفاده از دستگاه الایزا خوان مدل EL۸۰۰ و در طول موج ۴۰۵ یک بار پس از گذشت ۳۰ دقیقه انکوباسیون و بار دوم؛ پس از ۱۲۰ دقیقه انکوباسیون اندازه‌گیری شد و با توجه به میزان جذب عصاره برگ سالم (شاهد منفی)، آستانه جذب گیاهان آلوده با استفاده از فرمول $X+3SD$ تعیین شد. در این فرمول، X میانگین جذب و SD انحراف معیار چاهک‌های سالم است. در مواردی سه برابر میانگین جذب گیاه سالم به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد. بدین ترتیب، نمونه‌های بیمار مشخص و درصد آلودگی ارقام مختلف تعیین گردید. جهت بررسی پراکنش و ویروس در مرحله دوم پژوهش، از آلوده ترین رقم (دی‌بی‌ایکس) در چهار ناحیه غرب استان (کردکوی، بندرگز، چهارده، النگ، سوتده، دنگلان، گل افرا، باغونک‌ناره، سرطاق و دشتی کلاته)، مرکز استان (گرگان، فیض‌آباد، تقی‌آباد، فوجرد، سرخنکلاته، معصوم‌آباد، سرخنکلاته، توسکستان، نصرآباد، تقی‌آباد، سیدمیران)، شهرستان علی‌آباد (فاضل‌آباد، مهدی‌آباد، حکیم‌آباد، فندر سک، برفتان) و شرق استان (شهرستان‌های آزادشهر و مینودشت)، تعداد ۲۵۲ نمونه به صورت کاملاً تصادفی جمع‌آوری شد. نمونه‌ها آزمون الایزا گردید و ODهای به‌دست آمده مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

برای بررسی یکسان بودن توزیع آلودگی در مناطق مختلف استان، توزیع فراوانی‌های مشاهده شده براساس یک طبقه‌بندی دو حالتی (از نظر آلودگی به ویروس TRSV یا غیر آلوده بودن به آن) با استفاده از جدول توافقی کای دو، χ^2 ، در سطح اطمینان $\alpha=0/05$ انجام شد. برای بررسی مقایسه‌ای غلظت ویروس در مناطق مختلف با شاهد از آزمون One Sample t-test استفاده گردید. برای بررسی فرض برابری نسبت‌های نمونه‌های آلوده از واحدهای دو جامعه از آزمون Z (توزیع دو جمله‌ای) استفاده گردید

که در آن: p نسبت آلودگی به ویروس و n تعداد برگ‌های مورد آزمایش بود:

$$p = \frac{p_1 n_1 + p_2 n_2}{n_1 + n_2}$$

$$Z = \frac{P_1 - P_2}{\sqrt{p(1-p)\left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}\right)}}$$

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS و رسم نمودارها با نرم‌افزار اکسل در محیط ویندوز انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج این پژوهش وجود ویروس TRSV را در استان گلستان مورد تایید قرار داد. بررسی نتایج ردیابی ویروس نشان داد که از ۱۸۰ نمونه جمع‌آوری شده از ارقام مختلف سویا، تعداد ۴۰ نمونه در آزمون الیزا واکنش مثبت داشتند (آلوده به TRSV بودند)؛ در حالی که تعداد ۱۴۰ نمونه عاری از TRSV بودند. نظر به اینکه بوته‌های نمونه‌برداری شده همگی در ظاهر علائم آلودگی به ویروس TRSV را نشان می‌دادند و با توجه به منفی بودن نتایج آزمون الیزا در برخی نمونه‌ها، مشخص گردید که وجود علائم ظاهری نمی‌تواند دلیل قابل اعتمادی برای وجود آلودگی به ویروس TRSV باشد و روش‌های سرولوژیکی، یکی از دقیق‌ترین ابزار جهت تشخیص قطعی ویروس می‌باشد. بر اساس نتایج این پژوهش، میزان آلودگی متفاوتی در ارقام مختلف سویا اثبات گردید. رقم دی‌پی‌ایکس با ۵۰ درصد آلودگی و ارقام جی‌کا و گرگان ۳ بدون آلودگی، بیش‌ترین و کم‌ترین میزان آلودگی را دارا بودند (جدول ۱).

جدول ۱- وضعیت آلودگی ارقام مختلف سویا به ویروس TRSV در استان گلستان.

ردیف	رقم سویا	تعداد نمونه‌های بررسی شده	درصد آلودگی
۱	دی‌پی‌ایکس	۴۰	۵۰
۲	جی‌کا	۴۰	۰
۳	ویلیامز	۴۰	۲۵
۴	پرشینگ	۵۰	۲۰
۵	گرگان ۳	۱۰	۰

مطابق نظر هارتمن و همکاران (۱۹۹۹)، TRSV می‌تواند سویا را در هر مرحله‌ای در طول مدت حیات آلوده کند ولی بعد از شکوفه‌دهی حساسیت به ویروس کاهش می‌یابد. هر چه فاصله زمانی

بیشتری بین آلودگی و گلدهی وجود داشته باشد، میزان آلودگی هم بیشتر خواهد بود. دیررس بودن رقم دی‌پی‌ایکس و مدت زمان طولانی‌تری که این رقم در مزرعه طی می‌کند، می‌تواند تا حدودی آلودگی بیشتر این رقم را نسبت به سایر ارقام توجیه نماید. علاوه بر آن، تاریخ‌های کشت مختلف می‌تواند به صورت مستقیم و غیرمستقیم بر جمعیت آفات و شیوع بیماری‌ها تاثیر گذارد. همچنین، ارقام مختلف سویا به‌طور طبیعی حساسیت‌های متفاوتی نسبت به ویروس‌ها داشته و میزان انتقال ویروس در هر رقم متفاوت می‌باشد (هارتمن و همکاران، ۱۹۹۹). به نظر می‌رسد که در بین پنج رقم مورد بررسی، ارقام جی‌کا و گرگان ۳ از مقاومت بالاتری برخوردار بودند. لازم به ذکر است که تاکنون مطالعه جامعی بر روی بررسی حساسیت ارقام تجاری سویا به TRSV صورت نگرفته است و تعیین میزان مقاومت و حساسیت ارقام به بررسی بیشتری نیاز دارد.

نتایج پژوهش درباره پراکنش ویروس با استفاده از آزمون نسبت‌ها (آزمون Z) نشان داد آلودگی در برخی از مناطق استان گلستان اختلاف معنی‌داری داشت ($P < 0/05$)؛ ناحیه غربی دارای بالاترین میزان آلودگی (۲۱/۵ درصد) و شهرستان علی‌آباد بدون آلودگی بود. نتایج به‌دست‌آمده از بررسی آلودگی نواحی مورد کشت سویا در استان گلستان از لحاظ آلودگی یا عدم آلودگی به ویروس TRSV با استفاده از جدول توافقی (آزمون کای دو) نشان داد که آلودگی در استان گلستان به طور معنی‌دار به ناحیه مورد کشت این محصول بستگی دارد ($\chi^2 = 0/0$). نواحی سویاکاری غرب و شرق گلستان نسبت به دیگر مناطق استان از میزان آلودگی بیشتری به ویروس TRSV برخوردار بودند و در مقایسه با شهرستان علی‌آباد اختلاف معنی‌داری نشان دادند ($P < 0/05$). میزان آلودگی شهرستان گرگان با مزارع غرب استان اختلاف معنی‌داری داشت، اما اختلاف معنی‌داری بین میزان آلودگی شهرستان گرگان نسبت به بخش شرقی و علی‌آباد مشاهده نشد ($P > 0/05$). مزارع شرق و غرب استان نیز اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند ($P > 0/05$) (جدول ۲).

جدول ۲- وضعیت آلودگی به ویروس TRSV در مناطق مختلف سویا کاری (استان گلستان).

(تذکر: حروف مشترک نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین مناطق نمونه‌برداری است)

ردیف	رقم سویا	درصد آلودگی
۱	غرب گلستان	۲۱/۵ ^a
۲	گرگان	۵/۵ ^{bc}
۴	علی‌آباد	۰ ^c
۵	شرق گلستان	۱۳/۵ ^{ab}

بر اساس گزارش گرو (۱۹۹۹) نیز درصد آلودگی به ویروس TRSV در بخش‌های مختلف ویسکونزین متفاوت بود. بخش‌های مرکزی و شمالی ویسکونزین به ترتیب دارای ۱۳ و ۵ درصد آلودگی بودند، در حالی که ویروس از بخش جنوبی ویسکونزین ردیابی نگردید. می‌توان علت اصلی عدم آلودگی شهرستان علی‌آباد را به شرایط آب و هوایی خنک‌تر و میزان بارندگی بیش‌تر این شهرستان نسبت به سایر مناطق استان نسبت داد. مناطقی که از شرایط آب و هوایی سردتری برخوردارند به دلیل فعالیت کمتر ناقلین، در مقایسه با مناطق گرم وضعیت آلودگی کم‌تر و یا بدون آلودگی را از خود نشان می‌دهند (هارتمن و همکاران، ۱۹۹۹؛ هیل، ۲۰۰۳). علاوه بر آن، مجاورت مزارع سویا با ذرت که باعث کاهش فعالیت ناقلین می‌شود (هارتمن و همکاران، ۱۹۹۹) می‌تواند از فاکتورهای موثر بر عدم آلودگی شهرستان علی‌آباد، در کنار شرایط محیطی حاکم باشد. بر این اساس شاید بتوان عدم آلودگی شهرستان علی‌آباد را توجیه نمود.

در این پژوهش، در مجموع حدود ۱۰ درصد مزارع مورد بررسی در استان گلستان به TRSV آلودگی داشتند. تو (۱۹۸۶) و برای (۲۰۰۵) میزان آلودگی در کانادا و ایالات متحده را به ترتیب ۰/۶۷ درصد و ۹ درصد اعلام کرده بودند. مقایسه نتایج این پژوهش با نتایج به‌دست آمده توسط سایر محققین نشان داد که میانگین میزان آلودگی استان گلستان در سال ۱۳۸۷ از میزان بالایی برخوردار بود. احتمالاً عدم استفاده از بذور سالم، عدم استفاده از ارقام مقاوم‌تر، از بین نبردن منابع آلودگی در مزارع، و جین نکردن علف‌های هرز میزبان در مزارع سویا به‌منظور از بین بردن چرخه آلودگی، عدم مدیریت ناقلین و سم‌پاشی به موقع محصولات توسط حشره‌کش‌ها می‌تواند از دلایل مهم افزایش آلودگی در مناطق مختلف استان گلستان باشد.

بررسی نتایج غلظت ویروس TRSV در چهار ناحیه استان در مقایسه با شاهد با استفاده از آزمون t یک نمونه‌ای نشان داد که در ناحیه غربی، میانگین غلظت ویروس در دو مزرعه بالاتر از حد بحرانی آلودگی و این آلودگی در سطح معنی‌داری بود ($P < 0/01$) (جدول ۳- ردیف ۱ و ۲ در بخش غربی). در یک مزرعه آلودگی در سطح معنی‌دار نبود ($P > 0/05$)، ولی در حدود غلظت بحرانی ویروس بود (جدول ۳- ردیف ۷ در بخش غربی). در منطقه گرگان و بخش شرقی استان در سه مزرعه آلودگی به TRSV در سطح معنی‌دار نبود ($P > 0/05$)، ولی در حدود غلظت بحرانی ویروس بود (جدول ۳- ردیف ۴، ۶، ۸ و ۹ در گرگان و بخش شرقی). در شهرستان علی‌آباد، مقادیر بازیابی ویروس در حد بسیار پایینی بود (جدول ۳).

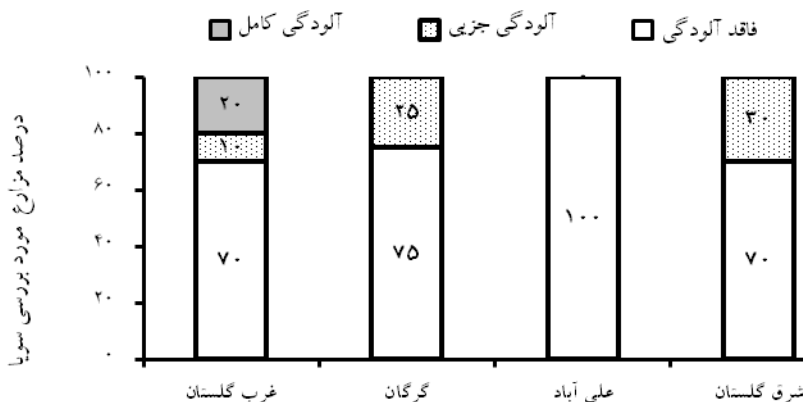
جدول ۳ - مقادیر میانگین و انحراف معیار ویروس در برگ‌های مشکوک به ویروس TRSV در رقم دی‌پی‌ایکس

ایستگاه نمونه‌برداری	بخش غربی گلستان (شاهد = ۰/۰۴۳)	گرگان (شاهد = ۰/۰۸۶)	علی‌آباد (شاهد = ۰/۱۴۲)	بخش شرقی گلستان (شاهد = ۰/۱۴۳)
۱	۰/۱۸۵ ± ۰/۰۲ ⁺⁺	۰/۰۰۷ ± ۰/۰۰۳ ⁻⁻	۰/۱۹۵ ± ۰/۰۱۷ ⁻⁻	۰/۲۱ ± ۰/۰۴ ⁻⁻
۲	۰/۲۲۵ ± ۰/۰۲ ⁺⁺	۰/۰۶ ± ۰/۰۲ ⁻⁻	۰/۲ ± ۰/۰۰۹ ⁻⁻	۰/۲۸ ± ۰/۰۳ ⁻⁻
۳	۰/۰۷ ± ۰/۰۳ ⁻⁻	۰/۱۷ ± ۰/۰۶ ⁻⁻	۰/۲۴ ± ۰/۰۳ ⁻⁻	۰/۳ ± ۰/۰۴ ⁻⁻
۴	۰/۰۶ ± ۰/۰۳ ⁻⁻	۰/۰۳ ± ۰/۰۲ ⁻⁻	۰/۱۷ ± ۰/۰۲ ⁻⁻	۰/۴۴ ± ۰/۰۳ ^{ns}
۵	۰/۰۳ ± ۰/۰۱ ⁻⁻	۰/۰۴ ± ۰/۰۴ ⁻⁻	۰/۲۳ ± ۰/۰۳ ⁻⁻	۰/۲۴ ± ۰/۰۵ ⁻⁻
۶	۰/۰۴ ± ۰/۰۱ ⁻⁻	۰/۲۴ ± ۰/۰۳ ^{ns}	۰/۱۹۷ ± ۰/۰۱ ⁻⁻	۰/۲۴۵ ± ۰/۰۶ ⁻⁻
۷	۰/۱۱ ± ۰/۰۳ ^{ns}	۰/۲۳ ± ۰/۰۳ ⁻⁻	۰/۲۱ ± ۰/۰۳ ⁻⁻	۰/۱۶ ± ۰/۰۶ ⁻⁻
۸	۰/۰۵ ± ۰/۰۰۶ ⁻⁻	۰/۲۶ ± ۰/۰۴ ^{ns}	۰/۲۵ ± ۰/۰۲ ⁻⁻	۰/۴۹ ± ۰/۱۲ ^{ns}
۹	۰/۰۶ ± ۰/۰۲ ⁻⁻	۰/۲۳ ± ۰/۰۴ ^{ns}	۰/۲۴ ± ۰/۰۲ ⁻⁻	۰/۴۱ ± ۰/۰۷ ^{ns}
۱۰	۰/۰۴ ± ۰/۰۲ ⁻⁻	۰/۰۶ ± ۰/۰۱۵ ⁻⁻	۰/۲۳ ± ۰/۰۰۹ ⁻⁻	۰/۲۹ ± ۰/۰۴ ⁻⁻

ns: آلودگی بالاست ولی در حد معنی‌دار نیست. علامت مثبت (+): آلودگی بالا و معنی‌دار (+) در سطح ۰/۰۵ و ++ در سطح ۰/۰۱. علامت منفی (-): عدم آلودگی.

مطابق شکل ۱، تنها در ۲۰ درصد مناطق نمونه‌برداری شده غرب استان تمام نمونه‌های جمع‌آوری شده آلوده بود، ۱۰ درصد مزارع دارای آلودگی جزئی (بعضی از بوته‌ها آلوده و بیش‌تر نمونه‌ها بدون آلودگی به ویروس TRSV بودند) و ۷۰ درصد مزارع فاقد آلودگی بودند. در منطقه شرقی استان و

گرگان، مزارع با آلودگی کامل مشاهده نشد و تنها برخی مزارع دارای آلودگی جزئی بودند. در شهرستان علی‌آباد همه نمونه‌های مورد بررسی سالم بودند (شکل ۱).



مناطق سویا کاری استان گلستان

شکل ۱- وضعیت آلودگی مناطق مختلف استان گلستان در سال ۱۳۸۷.

اختلاف قابل توجه در میزان وجود ویروس در مناطق مختلف استان را می‌توان به نحوه انتشار ویروس نسبت داد. علایم ویروس‌های جنس *Nepovirus* به‌طور مشخص در مزارع به‌صورت کپه‌ای دیده می‌شوند که توزیع افقی ناقلین نامتود را در خاک نشان می‌دهد. نماتودها به آهستگی در خاک مهاجرت کرده و همانند ناقلین هوایی تنها می‌توانند ویروس‌ها را به مزارع مجاور انتقال دهند (دوتیت و مک گویر، ۱۹۷۸)، اما آلودگی بذر سویا به ویروس TRSV، باعث ایجاد آلودگی سیستمیک در گیاه می‌شود (بشیر و همکاران، ۲۰۰۰). بالاترین میزان خسارت‌ها زمانی است که بوته‌های جوان آلوده شده باشند یا هنگامی که بذر با درصد بالایی از TRSV کاشته شده باشد. چنین به نظر می‌رسد در مزارع کاملاً آلوده، ویروس بذرزاد سبب ایجاد آلودگی فراگیر در سراسر مزرعه شده بود، در حالی که در مزارعی با آلودگی جزئی، احتمالاً ویروس از مزارع جانی و در اثر فعالیت ناقلین مانند نماتودها و حشرات در برخی از بوته‌ها ایجاد آلودگی کرده بود. نتایج به‌دست آمده مشابه نتایج پژوهش‌های رادر و همکاران (۲۰۰۳) بود. بر اساس نتایج هارتمن و همکاران (۱۹۹۹) سرعت انتشار ویروس بستگی به گیاهان زراعی، غلف‌های هرز مجاور مزرعه و احتمالاً جمعیت حشرات ناقل

دارد. انتقال با بذریکی از مهم‌ترین روش‌های انتقال ویروس است (بشیر و همکاران، ۲۰۰۰) گرچه ویروس می‌تواند توسط تریپس (مسیحا، ۱۹۶۹) و نماتود (دوتیت و مک گویر، ۱۹۷۸) نیز در مزارع سویا انتقال یابد.

نتیجه‌گیری

براساس نتایج این پژوهش، میزان آلودگی در ارقام مختلف متفاوت بود، بنابراین استفاده از روش‌های به‌نژادی جهت افزایش محصول در ارقام مقاوم‌تر توصیه می‌گردد؛ با توجه به تفاوت میزان آلودگی در مزارع مختلف (۱۰۰-۰ درصد) و احتمال بذرزاد بودن ویروس، جهت کاهش آلودگی مزارع، از بذور سالم و گواهی شده استفاده گردد. همچنین به‌دلیل تاثیر شرایط آب و هوایی بر فعالیت ناقلین و کاهش فعالیت ناقلین در مناطق سردتر، تا حد امکان تهیه بذور از مناطق مذکور انجام گردد.

منابع

1. Alyari, H., Shekari, F., and Shekari, F. 2000. Oil seeds, agriculture and physiology. Amidy Press. 182 p. (In Persian).
2. Bashir, A., Ahmad, Z., and Murata, N. 2000. Seed – borne viruses : detection, identification and control. Printed by Agha Jee printer. Pakistan, 156 P.
3. Bray, M.M. 2005. Incidence, distribution, and symptom description of viruses in cultivated soybean in the southeastern United State. Hort Sci. 40:874.
4. Brunt, A.A., Crabtree, K., Dallwitz, M.J, Gibbs, A.J., and Watson, L. 1996. Viruses of Plants: Descriptions and Lists from the VIDE Database. Wallingford, UK: CABI.
5. Clark, M., and Adams, A.N. 1977. Characteristics of the microplate method of Enzyme-Linked-Immunosorbent Assay for the detection of plant viruses. J. Gen. Virol. 34:475-483.
6. Clark, A.J., and Perry, K.L. 2002. Transmissibility of field isolates of soybean viruses by *Aphis glycines*. Plant Dis. 86:1219-1222.
7. Demski, J.W., and Kuhn, C.W. 1989. *Tobacco ringspot virus*. In: Compendium of soybean diseases 3rd edition, pp. 57-59. American Phytopathological Society, St. Paul, USA.
8. Douthit, L.B., and McGuire, J.M. 1978. Transmission of *Tobacco ringspot virus* by *Xiphinema americanum* to a range of hosts. Plant Dis Reporter. 62: 164-166.
9. Golnaraghi, A.R., Shahraeen, N., Pourrahim, R., Farzadfar, Sh., and Ghasemi, A. 2004. Occurrence and Relative Incidence of Viruses Infecting Soybeans in Iran. Plant Dis. 1069 – 1074.

10. Hartman, G. L., Sinclair, J. B., and Rupe, J. C. 1999. Compendium of Soybean Diseases. 4th ed. American Phytopathological Society, St. Paul, MN
11. Hill, J.H. 2003. Soybean. In Loebenstein, G., and Thottappilly, G. (eds.). Virus and virus like disease of major crops in development countries. Dordrecht, Netherland: Kluwer Academic Publishers, Dorsrecht/Boston/London.
12. Katoch, M., Ram, R., and Zaidi, A.A. 2003. First report of *Tobacco ringspot virus* occurring in *Gladiolus* in India. Floriculture Division, Institute of Himalayan Bio-resource Technology, Palampur, HP, India.
13. Keinath, P. 2008. First Report of *Tobacco ringspot virus* in Blackberry (*Rubus* sp.) in Alabama, Plant Disease, December, 92:12. 1708 p.
14. Messieha, M. 1969. Transmission of *Tobacco ringspot virus* by thrips. Phytopathol. 59: 943-945.
15. Mirzaei, H. 2004. Soybean protein. Agriculture science press. (In Persian).
16. Moini, A., and Izadpanah, K. 2003. Identification of some pathogenic viruses of soybean and their possible with podding disorder with emphasis on *Tospoviruses*. Final report project in virology department, Plant Pest and Diseases Research Institute. 24 pp. (In Persian).
17. Rahimian, H., Hamdollah-Zadeh, A., and Montazeri, M. 1995. Viruses associated with soybean pod set failure syndrome in Iran. J. Plant Pathol. 32: 70-71.
18. Rakhshandehroo, F., Pourrahim, R., Zamani Zade, H., Rezaee, S., and Mohammadi, M. 2005. Incidence and distribution of viruses infecting Iranian vineyards. Phytopathol. 153:480-484.
19. Samson, R.W., and Nickell, C.D. 1942. *Tobacco ringspot virus* on edible soybean in Indiana in 1941. Plant Dis. 26:382-383.
20. Schilder, A. 2009. *Tomato ringspot virus* decline-*Tobacco ringspot virus* decline, MSU Plant Pathology.
21. Shakiba, E., Chen, P., and Gergerich, R.C. 2006. Reaction of current soybean cultivars in Arkansa to *Soybean Mosaic Virus* and *Tobacco Ringspot Virus*.
22. Sutic, D.D., Ford, R.E., and Tomic, M.T. 1999. Handbook of Plant Virus Diseases. CRC. Press, Boca Raton, FL.
23. Tu, J.C. 1986. Strains of Tobacco ringspot virus isolated from soybean in southwestern Ontario (Canada). Can J. Plant Sci. 66:491-498.
24. Ward, L.I., Delmiglio, C., Hill, C.F., and Clover, G.R.G. 2009. First report of *Tobacco ringspot virus* on *Sophora microphylla*, a native tree of New Zealand. J. Plant Pathol. 107, 411-420.
25. Wrather, J.A., Koenning, S.R., and Anderson, T.R. 2003. Effect of disease on soybean yields in the United States and Ontario (1999-2002). Online. Plant Health Progress doi: 10, 1094/PHP: 2003-0325-01-RV.



Infection status of soybean field to *Tobacco ringspot virus* (TRSV) in Golestan province

*S. Shameli¹, S. Nasrollahnejad² and M.Hashemi³

¹Former M.Sc. Student, Dept. of Plant Pathology, Islamic Azad University Damghan Branch, ²Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, ³Seed and Plant Improvement Institute, Karaj

Abstract

In order to serological detection of *Tobacco ringspot virus* in soybean fields of Golestan province, during 2008 growing season, infected samples of DPX, Gorgan3, Williams, Pershing and JK cultivars with leaf malformation, stunting, necrosis and terminal bud blight symptoms, were collected and tested by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method using specific polyclonal antibody. Different infection was registered in different cultivars. DPX cultivar with 50% infection and JK and Gorgan3 without any infection had higher and lower infection respectively. Distribution homogeneity of TRSV in different regions of Golestan province, was surveyed by cross tabs, χ^2 , in $\alpha = 0.05$ in most infected cultivar, DPX. Overall, 10% infection was registered for the province. Results showed significantly different infection between 4 regions; Western (Bandargaz, Kordkoy), central (Aliabad), eastern (Azadshahr, Minodasht) and Gorgan in Golestan province. Western region with 21.5% and central region without any infection had higher and lower infection respectively.

Keywords: Golestan province; Soybean; TRSV; Serology; Distribution

*Corresponding author; Email: shameli61@gmail.com