

مقاله پژوهشی

واکنش گیاهان چغندرقد، فلفل و لوبیا به آلودگی مخلوط ویروس موزاییک خیار و ویروس‌های پیچیدگی بوته چغندرقد*

سجاد آسترکی، ناصر صفایی و مسعود شمس بخش^{۱*}

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۱۵؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۱۵)

چکیده

آلودگی مخلوط ویروس‌های گیاهی در طبیعت پدیده‌ای عمومی است. در پژوهش حاضر برهمکنش ویروس ایرانی پیچیدگی بوته چغندرقد (*Beet curly top Iran virus, BCTIV*) و ویروس پیچیدگی بوته چغندرقد (*Beet curly top virus, BCTV-Svr*) با ویروس موزاییک خیار (*Cucumber mosaic virus, CMV*) در گیاهان چغندرقد رقم *BTS 853* مقاوم به بیماری پیچیدگی بوته در دمای ۲۰ و ۲۶ درجه سلسیوس، فلفل رقم کالیفرنیا واندر و لوبیا ارقام اختر و گلی در دمای ۲۶ درجه سلسیوس بررسی شدند. آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و آلوده سازی گیاهان با همسانه‌های عفونت‌زای ویروس‌های پیچیدگی بوته چغندرقد و مایه‌زنی مکانیکی عصاره برگ‌های کدوی آلوده به جدایه فارس ویروس موزاییک خیار انجام شد. شدت باندهای حاصل از الکتروفورز محصولات پی سی آر توسط نرم افزار *Totalab* بررسی شد. بررسی تاثیر دما روی مقاومت چغندرقد نشان داد که ویروس‌های مورد بررسی در دمای 20 ± 1 درجه سلسیوس به استثنای رگبرگ روشنی خفیف در بعضی تیمارها، علائم خاصی ایجاد نکردند. علائم بیماری در تیمارهای *BCTV-Svr* و *BCTV-Svr+CMV* و *BCTIV+CMV* یک هفته زودتر نسبت به تیمارهای آلودگی منفرد در دمای 26 ± 1 درجه سلسیوس ظهور کرد. در تیمارهای مربوط به گیاهان فلفل و لوبیا نیز نتایج مشابهی به دست آمد. تجزیه و تحلیل داده‌های پی سی آر نیز نشان داد که غلظت *BCTV-Svr* در تیمارهای *BCTV-Svr+CMV* و *BCTIV+BCTV-Svr* نسبت به تیمار منفرد این ویروس افزایش داشت. نتایج این پژوهش نشان داد آلودگی مخلوط ویروس‌های پیچیدگی بوته چغندرقد و جدایه ایرانی پیچیدگی بوته چغندرقد با ویروس موزاییک خیار منجر به شکست مقاومت و تشدید علائم بیماری در گیاهان چغندرقد، فلفل و لوبیا می‌شود. بنابراین به نظر می‌رسد میزان تاثیری روی برهمکنش این ویروس‌ها با یکدیگر ندارد.

کلیدواژه: ویروس ایرانی پیچیدگی بوته چغندرقد، ویروس پیچیدگی بوته چغندرقد، ویروس موزاییک خیار، چغندرقد، لوبیا

* بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول، ارائه شده به دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس.

** مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: shamsbakhsh@modares.ac.ir

۱. به ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار و استاد گروه بیماری شناسی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس.

Reaction of sugar beet, pepper and bean plants to co-infection with cucumber mosaic virus and beet curly top viruses*

S. Astaraki, N. Safaie, and M. Shams bakhsh^{1**}

(Received: 5.1.2019; Accepted: 5.1.2020)

Abstract

Mixed infections of plants with viruses is a common phenomenon occurring in nature. In the present study, interactions between *Beet curly top virus* (BCTV-Svr), *Beet curly top Iran virus* (BCTIV) and *Cucumber mosaic virus* (CMV) were investigated in resistant cultivar (BST853) of sugar beet (*Beta vulgaris*) to curly top disease at 20°C and 26 °C; pepper (California Wander cultivar) and bean (Akhtar and Goli cultivars) at 26 °C. Experiments were performed in a completely randomized design. Plants were inoculated with infectious clones of BCTV-Svr and BCTIV and also mechanically with the sap of the Fars isolate of CMV infected *Cucumis* sp. leaves. The intensity of the bands of PCR products was evaluated by Totallab software. The viruses did not induce any symptoms at 20 ± 1 °C on sugar beet plants, except vein clearing observed in some treatments. In the case of BCTV-Svr + CMV and BCTV-Svr + BCTIV treatments, plants showed symptoms one week earlier than single infection treatments at 26 ± 1°C. Similar results were obtained in treatments using pepper and bean plants. Analysis of PCR data showed that BCTV-Svr accumulation in BCTV-Svr + CMV and BCTIV + BCTV-Svr treatments increased compared to single treatment of the virus. Results of this study showed that co-infection of BCTV-Svr and BCTIV with CMV leads to breakdown of resistance and induction of severe symptoms in sugar beet, pepper and bean plants. Hence, it seems that the host plant, does not affect interaction of these viruses.

Keywords: *Beet curly top Iran virus*, *Beet curly top virus*, *Cucumber mosaic virus*, Sugar beet, Bean

* Part of M.Sc. Thesis of the First Author Submitted to Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

** Corresponding author's E-mail: shamsbakhsh@modares.ac.ir

1. Ph.D Student, Associate Professor, Professor respectively, Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

مقدمه

جنس و ۱۰۰ تیره گیاهی را آلوده می‌کند (Garcia-Arenal & Palukaitis 2008). این ویروس شته‌برد بوده و به روش ناپایا منتقل می‌شود (Gildow et al. 2008). در میان ویروس‌های گیاهی، ویروس موزاییک خیار به عنوان یکی از پنج ویروس مهم آلوده کننده گیاهان محسوب می‌شود که پراکنش جهانی دارد (Palukaitis & Garcia-Arenal 2003). خسارت CMV به همراه ویروس موزاییک معمولی لوبیا (*Bean common mosaic necrosis, BCMV*) باعث کاهش محصول تا ۴۰ درصد در گیاه لوبیا شده است (Ghorbani et al. 2010). آلودگی مخلوط به ویروس موزاییک خیار و ویروس پیسک فلفل (*Pepper mottle virus*) باعث افزایش شدت علائم و کاهش ارتفاع و وزن تر میزبان می‌شود (Murphy & Bowen 2006). همچنین آلودگی مخلوط ویروس پیچیدگی برگ زرد گوجه فرنگی (*Tomato yellow leaf curl virus, TYLCV*) و CMV در گوجه فرنگی دارای ژن مقاوم Ty-1 منجر به افزایش تجمع ویروس‌ها نسبت به آلودگی منفرد می‌شود و احتمال شکسته شدن مقاومت نسبت به TYLCV افزایش می‌یابد (Butterbach et al. 2014). بعلاوه مقاومت گیاهان گوجه فرنگی به آلودگی ناشی از ویروس پژمردگی لکه‌ای گوجه فرنگی (*Tomato spotted wilt virus, TSWV*) در آلودگی مخلوط با ویروس سبزدرد گوجه فرنگی (*Tomato chlorosis virus, TCV*) شکسته می‌شود و باعث بروز علائم TSWV می‌شود، در صورتی - که در آلودگی منفرد TSWV علائمی مشاهده نمی‌شود (Garcia-Cano et al. 2006). ویروس‌های عامل پیچیدگی بوته و ویروس موزاییک خیار پراکنش جهانی دارند و در محصولات مهم شامل چغندر قند، لوبیا، گوجه فرنگی، فلفل و برخی دیگر از گیاهان خسارت ایجاد می‌کنند. این ویروس‌ها در ایران نیز از مناطق و محصولات مختلف

به طور معمول در طبیعت گیاهان در معرض آلودگی مخلوط به چند ویروس می‌باشند (Pruss et al. 1997). وقوع این پدیده می‌تواند به واکنش‌هایی همچون هم‌افزایی یا آنتاگونیستی منجر شود (Hammond et al. 1999). در هم‌افزایی، یک بیمارگر مقاومت گیاه را با تنظیم منفی مسیرهای مرتبط با دفاع، کاهش می‌دهد (Barrett et al. 2009). توانایی ویروس‌ها در ایجاد بیماری‌های شدید و تاثیرات مثبت روی یکدیگر در آلودگی مخلوط هم از نظر زیست‌شناختی و همه‌گیری و هم از نظر اقتصادی دارای اهمیت می‌باشد. افزایش تکثیر یک یا دو ویروس در برهمکنش ممکن است روی نرخ انتقال آن ویروس با ناقل و حتی دامنه میزبانی آن نیز اثر داشته باشد (Elena et al. 2011). تاکنون اکثر مطالعات هم‌افزایی بر بیماری‌های ناشی از دو ویروس با ژنوم دی‌ان‌ای آر‌ان‌ام متمرکز بوده است (Martín & Elena 2009).

بیماری پیچیدگی بوته توسط چندین ویروس متعلق به جنس‌های *Turncurto- Becurtovirus, Curtovirus* و *Geminiviridae* ایجاد می‌شود. ژنوم این ویروس‌ها دی‌ان‌ای تک‌لای حلقوی هستند و توسط زنجبرک‌ها منتقل می‌شوند (Kamali et al. 2016; Strausbaugh et al. 2008). ویروس ایرانی پیچیدگی بوته چغندر قند برای اولین بار از مزارع لوبیای استان خراسان رضوی گزارش شد و علاوه بر چغندر قند از سایر محصولات اقتصادی مهم از قبیل گوجه فرنگی، فلفل و لوبیا نیز گزارش شده است (Gharouni Kardani et al. 2013). ویروس موزاییک خیار گونه تیپ جنس *Cucumovirus* متعلق به تیره *Bromoviridae* دامنه میزبانی وسیعی دارد و بیش از ۱۳۲۵ گونه گیاهی متعلق به ۵۰۰

دانشگاه شهید باهنر کرمان استفاده شد. آگروباکتریوم حاوی همسانه‌های عفونت‌زا در محیط (LB) Luria-Bertani مایع به مدت یک شب رشد داده شدند. برای به‌دست آوردن سوسپانسیون باکتری با چگالی نوری ۰/۲ در طول موج ۶۰۰، سوسپانسیون باکتری ابتدا رسوب داده شد سپس رسوب با مقدار برابر آب مقطر استریل مخلوط و ۵۰ میلی مولار استوسرینگون اضافه شد (Grimsley et al. 1986). محلول حاوی ویروس به مدت یک ساعت در دمای اتاق روی شیکر تکان داده شد و سپس روی یخ به گلخانه منتقل شد و با استفاده از سرنگ انسولین به گیاهان چغندرقد در مرحله چهار تا شش برگی، لوبیا در مرحله دو برگی و فلفل در مرحله چهار برگی با حدود ۱۰۰ ماکرولیتر از سوسپانسیون مایه‌زنی شدند. جدایه فارس ویروس موزاییک خیار نیز در گیاهان کدو و خیار تکثیر و نگهداری شد. برای مایه‌زنی مکانیکی به نسبت یک به پنج (یک گرم بافت در پنج میلی لیتر بافر) از برگ آلوده تازه و بافر فسفات (pH=۷/۵) در هاون استریل عصاره‌گیری شد و بطور مکانیکی به گیاهان محک مایه‌زنی شد. از پودر کاربراندم برای خراش دادن برگ استفاده شد.

طرح آزمایش‌ها و تجزیه و تحلیل داده‌ها

آزمایش‌ها در غالب طرح کاملاً تصادفی برای هر گیاه به صورت جداگانه اجرا شد. در مورد چغندرقد علاوه بر آلودگی منفرد به هر سه ویروس و آلودگی مخلوط به BCTV-Svr+CMV، BCTIV+CMV، BCTV- Svr+BCTIV، بصوت هم‌زمان و غیر هم‌زمان با رعایت تاثیر ترتیب زمان مایه‌زنی ویروس‌ها با فاصله زمانی هفت روز نیز بررسی شد. در مورد گیاهان لوبیا و فلفل نیز تیمارها همانند چغندرقد بودند ولی به دلیل معنی‌دار نبودن نتایج تیمارهای آلودگی مخلوط هم‌زمان با غیرهم‌زمان در

گزارش شده و از اهمیت خاصی برخوردار هستند. با توجه به احتمال بالای آلودگی مخلوط ویروس‌های یاد شده در طبیعت، در پژوهش حاضر، تاثیر آلودگی مخلوط CMV با دو جدایه *Beet curly top Iran* و *Beet curly top virus* بر مقاومت گیاهان چغندرقد مقاوم به بیماری پیچیدگی بوته و همچنین فلفل و لوبیا برای مطالعه اثر میزبانی روی این برهمکنش بررسی شد.

مواد و روش‌ها

کشت و پرورش گیاهان

گیاهان مورد بررسی در این آزمایش شامل چغندرقد (رقم تجاری 853 BTS) مقاوم به بیماری ویروسی پیچیدگی بوته (محمودی، مذاکره شخصی)، لوبیا (ارقام اختر و گلی) و فلفل (رقم کالیفرنیا واندر) بودند. بذر چغندرقد از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج و لوبیا نیز از موسسه تحقیقات لوبیای شهرستان خمین، استان مرکزی تهیه شدند. برای بررسی تیمار دمایی در چغندرقد، همه تیمارهای اعمال شده در اتاقک رشد دارای ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی در دمای 20 ± 1 درجه سلسیوس و در گلخانه دارای نور طبیعی در دمای 26 ± 1 درجه سلسیوس بررسی شدند. همچنین بذر گیاهان فلفل و لوبیا در گلخانه دارای نور طبیعی و دمای 26 ± 1 درجه سلسیوس رشد داده شدند.

ویروس‌ها و روش مایه‌زنی گیاهان

همسانه عفونت‌زای BCTV-Svr با رس‌شمار X97203 (Bridson et al., 1998) و در مورد BCTIV از جدایه IR: JQ707949 Neg: B33P:-Sug:08 با رس‌شمار Heydarnejad et al. (2013) به ترتیب از دانشگاه شیراز و

جدول ۱. تیمارهای مایه‌زنی ویروس‌ها در گیاهان مورد آزمایش

Table 1. Treatments of inoculation of viruses in tested plants

Treatment	pepper	bean	sugar beet
single infection	BCTV	BCTV	BCTV
	BCTIV	BCTIV	BCTIV
	CMV	CMV	CMV
co-infection	BCTV+CMV	BCTV+CMV	BCTV+CMV
	BCTIV+CMV	BCTIV+CMV	BCTIV+CMV
	BCTV+BCTIV	BCTV+BCTIV	BCTV+BCTIV
	Control	Control	BCTV/CMV
co-infection at a seven-day interval			CMV/BCTV
			BCTIV/CMV
			CMV/BCTIV
			Control
			Control

چغندر قند و فلفل و ۲۵ روز بعد از مایه‌زنی گیاهان لوبیا از شاخص‌های فیزیولوژیک برای درجه بندی مقاومت گیاهان استفاده شد. برای به دست آوردن میزان تقریبی کلروفیل برگ از دستگاه کلروفیل متر (Minolta Chlorophyll Meter SPAD-502) استفاده شد، به این صورت که پس از کالیبره کردن دستگاه سه نقطه از یک برگ گیاه قرائت شد و سپس میانگین سه نقطه یادداشت شد. پس از اندازه گیری مقدار تقریبی کلروفیل برگ، از دستگاه فتوستنترمتر (Li-Cor, Li-3000, USA) برای اندازه گیری میزان فتوستنتر برگ استفاده شد. برای اندازه گیری میزان فتوستنتر گلدان‌ها به بیرون از گلخانه منتقل و این آزمایش در زیر نور مستقیم خورشید انجام شد. بررسی میزان کلروفیل a، b و کاروتنوئید نیز طبق روش Lichtenthaler (1987) انجام شد.

تعیین شاخص شدت بیماری

با تقسیم مجموع حاصل ضرب تعداد گیاهان (هر تیمار در چغندر قند ۲۵، لوبیا شش و فلفل نه تکرار) مایه‌زنی شده در رتبه متناظرشان (عدد مربوط به درجه شدت بیماری از یک تا نه برای چغندر قند و از یک تا چهار برای

چغندر قند، ترتیب زمان مایه‌زنی برای گیاهان لوبیا و فلفل بررسی نشد، تیمارها در جدول ۱ آورده شده‌اند. برای ثبت علائم بیماری و نمره‌دهی به علائم گیاهان برای چغندر قند از روش ارائه شده توسط Montazeri et al. (2016)، که از درجات، ۱ (بدون علائم) تا ۹ (ضخیم شدن، برجستگی رگبرگ و چروکیدگی شدید اکثر برگ‌ها همراه با پیچیدگی کامل برگ) نمره داده، استفاده شد و برای گیاهان لوبیا و فلفل نیز بسته به شدت بیماری، نمره یک برای (گیاه بدون علائم)، دو (رگبرگ روشنی)، سه (رگبرگ روشنی به همراه تغییر شکل رگبرگ‌ها) و چهار (رگبرگ روشنی، پیچیدگی برگ‌ها) در نظر گرفته شد. انجام آنالیزهای آماری توسط نرم افزار آر استودیو (R-Studio) و با توجه به ناپیوسته بودن داده‌های مربوط به نمره دهی برای تجزیه واریانس از روش کروسکال-والیس استفاده شد، همچنین برای مقایسه میانگین‌ها از روش دانکن و برای کمی کردن آزمون پی سی آر از نرم افزار توتال لب (Totalab) استفاده شد.

بررسی میزان فتوستنتر، کلروفیل و کاروتنوئید

در این پژوهش ۳۵ روز بعد از مایه‌زنی گیاهان

جدول ۲. آغازگرهای مورد استفاده برای ردیابی ویروس‌ها

Table 2. Primers used for detection of BCTV-Svr and BCTIV

Virus	Primer name	Primer sequence	Size of the amplified segment	Reference
BCTV-Svr	V1V V1C	5'- AGAAAATATACAAGAAATC-3' 5'- TTAATAAAAAATAACATCTAC-3'	750bp	Ebadzad <i>et al.</i> (2008)
BCTIV	1559-F FL-R	F: 5'-CACTCATAACAAGGTATCCAGTCCA-3' R: 5'-ACGGAGCTCTCCAAACAGTATTGGC-3'	792bp	Heydarnejad <i>et al.</i> (2013)
DNA18S	18S1 18S2	5'- AACGGCTACCACATCCAAG-3' 5'- TCATTACTCCGATCCCGAA -3'	500bp	Faria <i>et al.</i> (2006)

چغندر قند نشان داد که در دمای 20 ± 1 درجه سلسیوس فقط در مواردی رگبرگ روشنی خفیف در تیمارهای دارای آلودگی مخلوط مشاهده شد و علائم شاخص بیماری ایجاد نشد؛ ولی گیاهانی که در دمای 26 ± 1 درجه سلسیوس قرار داشتند علائم شاخص بیماری را با شدت مختلف بروز دادند.

علایم بیماری و میانگین نمره دهی در تیمارهای آلودگی مخلوط هم‌زمان و غیر هم‌زمان گیاهان چغندر قند با که ویروس ایرانی پیچیدگی بوته چغندر قند و ویروس پیچیدگی بوته چغندر قند با ویروس موزاییک خیار در گیاهان چغندر قند رقم 853 BTS مقاوم به بیماری پیچیدگی بوته در دمای 26 ± 1 درجه سلسیوس که ترتیب زمانی مایه‌زنی ویروس لحاظ شده بود، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۳).

تاثیر آلودگی مخلوط هم‌زمان و منفرد

تیمارهای آلودگی مخلوط و منفرد در گیاهان چغندر قند رقم 853 BTS مقاوم به بیماری پیچیدگی بوته در دمای 26 ± 1 درجه سلسیوس نشان داد که علائم بیماری پیچیدگی بوته در تیمار BCTV-Svr+BCTIV هفته دوم و BCTV-Svr +CMV در هفته سوم بعد از مایه‌زنی مشاهده شد. علائم تا هفته پنجم بررسی شدند و در این

لوبیا و فلفل) به کل تعداد گیاهان بررسی شده در تعداد رتبه‌ها، شاخص شدت بیماری در تیمارهای مختلف با استفاده از فرمول شاخص شدت بیماری به دست آمد، که در این فرمول حروف a تا i معرف تعداد گیاهان است.

$$DSI = \frac{[(1 \times a) + (2 \times b) + (3 \times c) + (4 \times d) + (5 \times e) + (6 \times f) + (7 \times g) + (8 \times h) + (9 \times i)]}{[(a + b + c + d + e + f + g + h + i) \times 9]}$$

استخراج دی ان ای کل از گیاهان و ردیابی ویروس‌ها

از برگ تازه روئیده شده گیاهان تیمارهای مختلف بطور هفتگی نمونه برداری شد. استخراج دی ان ای کل از بافت گیاهی به روش Doyle (1987) انجام شد. برای ردیابی ویروس‌های عامل پیچیدگی بوته در گیاهان، از آغازگرهای اختصاصی هر ویروس به شرح جدول ۲ استفاده شد. برای سنجش میزان تجمع ژنوم BCTV-Svr در گیاهان از آغازگرهای اختصاصی 18S RNA (جدول ۲)، به عنوان کنترل داخلی همراه با آغازگرهای اختصاصی ویروس (BCTV-Svr) در واکنش زنجیره‌ای پلیمرز نیمه کمی (semi-quantitative PCR) استفاده شد.

نتایج

تاثیر دما و آلودگی غیر هم‌زمان

نتایج آزمایش تاثیر دما بر علایم بیماری پیچیدگی بوته

بررسی گیاهان لوبیا نشان داد که علائم گیاهان مایه‌زنی شده با CMV و BCTV-Svr به صورت منفرد و مخلوط تفاوت معنی‌داری داشتند. گیاهان (رقم اختر) مایه‌زنی شده با BCTV-Svr + CMV علائم شدیدتری نشان دادند، به نحوی که در اکثر تکرارهای این تیمار، علائم شاخص و شدید بیماری پیچیدگی بوته مشاهده شد. در تیمار BCTV-Svr+BCTIV نیز علائم شاخص بیماری به وضوح مشاهده شد و تنها تفاوت آن با تیمار BCTV-Svr+CMV این بود که در تیمار BCTV-Svr+CMV رگبرگ زردی کمتری مشاهده شد. این در حالی بود که گیاهان تیمار شده در آلودگی منفرد، دارای بدشکلی ضعیفی نسبت به تیمار دارای آلودگی مخلوط بودند و ظهور علائم در آنها با تاخیر انجام شد (شکل ۲). تیمار-های BCTIV و BCTIV+CMV علائم شاخصی روی گیاهان لوبیا ایجاد نکردند.

در مورد فلفل، آلودگی‌های BCTV-Svr+CMV و BCTIV+CMV علاوه بر رگبرگ روشنی، تاوولی شدن هم در برگ‌ها مشاهده شد و گیاهان زودتر علائم شاخص بیماری را بروز دادند (شکل ۳).

بررسی آلودگی BCTV-Svr+BCTIV در گیاه فلفل نشان داد که زمان شروع بروز علائم تقریباً مشابه تیمارهای

جدول ۳. مقایسه میانگین مربوط به نمره دهی به تیمارهای چغندرقد، لوبیا و فلفل

Table 3. Comparing of mean related to the scoring of the treatments of sugar beet, bean and pepper

Treatment	Mean		
	Sugar beet	Bean	Pepper
BCTIV+ BCTV-Svr	3.44 ^a	3.00 ^a	1.77 ^c
BCTV-Svr +CMV	2.76 ^{ab}	3.16 ^a	3.11 ^a
BCTIV+CMV	2.16 ^{bc}	1.83 ^{bc}	2.55 ^{ab}
BCTV-Svr	2.00 ^{bc}	2.16 ^{ab}	1.66 ^{cd}
BCTIV	1.80 ^{bc}	1.5 ^{bc}	1.44 ^{cd}
CMV	1.36 ^c	1.33 ^{bc}	2.00 ^{bc}
Mock	1.00 ^c	1.00 ^c	1.00 ^d
BCTV-Svr /CMV	2.16 ^{bc}		
CMV/ BCTV-Svr	2.16 ^{bc}		
BCTIV/CMV	1.80 ^{bc}		
CMV/BCTIV	1.80 ^{bc}		

میانگین‌هایی که دارای حروف متفاوت هستند، بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری دارند.

Mean in each column followed by different letters, are significantly different using Duncan test.

هفته علائم شاخص بیماری پیچیدگی بوته نمایان شدند (شکل ۱).

همچنین تیمارهایی که تنها با ویروس موزاییک خیار مایه‌زنی شدند؛ در هفته چهارم پس از مایه‌زنی علائم موزاییک خفیف از خود نشان دادند و تا پایان آزمایش علائم ناشی از این ویروس، برخلاف علائم پیچیدگی بوته، تشدید نشد.



شکل ۱. علائم بیماری شامل پیچیدگی برگ در تیمار BCTV-Svr + BCTIV (a)، تورم رگبرگ در تیمار BCTV-Svr + CMV (b) و فقدان علائم در گیاه شاهد (c) پنج هفته بعد از مایه‌زنی در گیاهان چغندرقد

Fig 1. Curly top symptoms in BCTV-Svr + BCTIV (a), vein swelling in BCTV-Svr + CMV (b) and no symptoms in control plant (c) treatments five weeks post inoculation in sugar beet plants



شکل ۳. علائم گیاهان فلفل مایه‌زنی شده شامل تاوولی شدن با BCTV-Svr+CMV یک هفته (a) و دو هفته (b) بعد از مایه‌زنی.

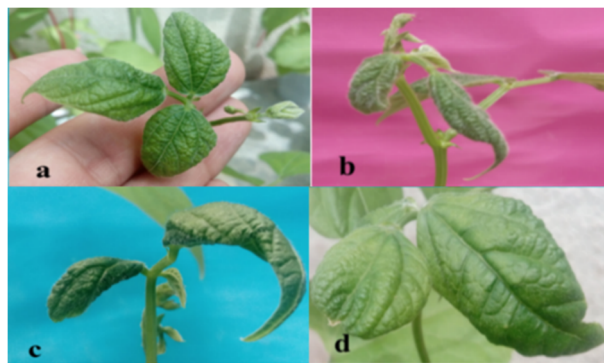
Fig 3. Symptoms of pepper plants including blistering inoculated with BCTV-Svr +CMV one week (a) and two weeks (b) after inoculation

دوره نهفتگی

دوره نهفتگی نیز به عنوان شاخص دیگری از مقاومت، در گیاه چغندرقد بررسی شد. نتایج نشان داد تیمار BCTV-Svr+BCTIV (ظهور علائم در هفته دوم) و BCTV-Svr+CMV (ظهور علائم در هفته سوم) نسبت به سایر تیمارها دارای دوره نهفتگی کمتری بود. در لوبیا (رقم اختر) نیز مانند چغندرقد، نتایج مشابهی به دست آمد و در تیمار BCTV-Svr علائم از هفته دوم ظاهر شد. در گیاهان فلفل نیز تیمارهای مخلوط BCTV-Svr+CMV و BCTIV+CMV کمترین دوره نهفتگی را داشتند؛ به طوری که ۱۵ روز پس از مایه‌زنی در این تیمارها علائم شاخص بیماری مشاهده شد در حالی که تیمار BCTV-Svr+BCTIV در این گیاه، برخلاف دو میزبان دیگر، شدت علائم مشابه تیمار منفرد BCTV-Svr بود. در پایان آزمایش در تیمار BCTV-Svr+CMV کوتولگی شدید بدون هیچگونه بهبودی مشاهده شد.

میزان فتوستتزر در چغندرقد

تجزیه واریانس داده‌های کلروفیل متر (اسپد) و فتوستتزر متر در چغندرقد نشان داد بین تیمارها در سطح یک



شکل ۲. علائم گیاهان لوبیای مایه‌زنی شده شامل ریز برگگی و پیچیدگی برگ به سمت پایین در تیمارهای BCTV-Svr + CMV (a,b) و BCTV-Svr + BCTIV (c,d) بیست و پنج روز بعد از مایه‌زنی

Fig 2. Symptoms of bean plants showing reduction of leaf size and downward leaf curling inoculated with BCTV-Svr + CMV (a,b) and BCTV-Svr + BCTIV (c,d) twenty five days post inoculation

منفرد BCTV-Svr و BCTIV بود و همانند تیمارهای منفرد ویروس‌ها، کوتولگی در آن مشاهده نشد و تا پایان آزمایش نیز شدت علائم در آن نسبت به سایر تیمارهای مخلوط کمتر بود. در پایان آزمایش (۳۵ روز بعد از مایه‌زنی) در اکثر تیمارها بجز تیمار BCTV-Svr+CMV، بهبودی مشاهده شد که با گیاه شاهد از نظر ارتفاع تفاوت معنی‌داری نداشتند.

تجزیه واریانس داده‌های مربوط به نمره‌دهی در گیاهان چغندرقد، لوبیا و فلفل نشان داد که بین تیمارها در سطح یک درصد اختلاف معنی‌داری وجود داشت. در گیاهان چغندرقد بیشترین میانگین مربوط به تیمار مخلوط BCTV-Svr+BCTIV بود و پس از آن تیمار BCTV-Svr+CMV در رتبه دوم قرار داشت (جدول ۳). در گیاهان لوبیا بیشترین میانگین نمره‌دهی به تیمار BCTV-Svr+CMV تعلق گرفت. همچنین در گیاهان فلفل بیشترین میانگین نمره‌دهی به تیمار BCTV-Svr+CMV تعلق گرفت (جدول ۳).

در آن‌ها لحاظ شده بود؛ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. مقایسه میانگین تیمارها در جدول ۴ آورده شده‌اند.

اندازه‌گیری کلروفیل a, b و کاروتنوئید

چغندر قند

در تجزیه واریانس داده‌های کلروفیل a در سطح یک درصد بین تیمارها اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. تیمارهای BCTIV+CMV و BCTIV-Svr+CMV دارای کمترین میانگین جذب کلروفیل a و تیمار شاهد دارای بیشترین میانگین بودند. نتایج تجزیه واریانس داده‌های کلروفیل b نیز در سطح پنج درصد در بین تیمارها اختلاف معنی‌دار نشان داد به طوری که تیمار BCTIV+CMV دارای کمترین میانگین و تیمار شاهد دارای بیشترین میانگین بود. در تجزیه واریانس داده‌های مربوط به کاروتنوئید نیز در سطح یک درصد بین تیمارها اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. تیمار BCTIV-Svr+CMV و BCTIV+CMV دارای کمترین میانگین بودند (جدول ۵).

لوبیا

تجزیه واریانس داده‌های کلروفیل a, b و کاروتنوئید در

جدول ۴. میانگین داده‌های کلروفیل متر (اسپد) و فتوسنتز متر (لایکور) در چغندر قند

Table 4. Mean of chlorophyll meter (spad) and photosynthesis meter (Li-cor) data in sugar beet

Treatment	Mean	
	Chlorophyll	Photosynthesis
BCTIV+BCTV-Svr	24.92 ^c	1.05 ^d
BCTV-Svr +CMV	27.79 ^{bc}	1.89 ^{bc}
BCTIV+CMV	25.46 ^{bc}	1.40 ^{cd}
CMV/BCTV-Svr	28.13 ^{bc}	2.20 ^b
BCTV-Svr /CMV	28.95 ^{bc}	2.49 ^b
CMV/BCTIV	27.43 ^{bc}	1.73 ^{bcd}
BCTIV/CMV	27.61 ^{bc}	2.19 ^{bc}
BCTIV	28.86 ^{bc}	2.42 ^b
BCTV-Svr	28.75 ^{bc}	2.30 ^b
CMV	29.47 ^b	2.43 ^b
Mock	35.98 ^a	4.00 ^a

میانگین‌هایی که دارای حروف متفاوت هستند، بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری دارند.

Mean in each column followed by different letters, are significantly different using Duncan test.

درصد اختلاف معنی‌داری وجود داشت. تیمار BCTV-Svr+BCTIV دارای کمترین میانگین کلروفیل بود و پس از آن تیمار BCTIV+CMV میانگین کمتری نسبت به سایر تیمارها داشت. در مورد فتوسنتز، تیمار BCTV-Svr+BCTIV دارای کمترین میانگین بود و پس از آن تیمار BCTIV+CMV قرار گرفت. به علاوه مشابه بررسی‌های قبل، بین تیمارهایی که ترتیب مایه‌زنی ویروس

جدول ۵. میانگین و گروه بندی تیمارها در داده‌های کلروفیل a, b و کاروتنوئید

Table 5. Mean and grouping of treatments in chlorophyll a, b and carotenoids data

Treatment	Mean		
	Chlorophyll (microgram/gram fresh weight)		carotenoids
	a	b	
Mock	0.88 ^d	0.73 ^c	1.78 ^b
CMV	0.77 ^c	0.56 ^{ab}	1.04 ^{ab}
BCTIV	0.71 ^{bc}	0.71 ^c	0.94 ^a
BCTV-Svr	0.64 ^{ab}	0.69 ^{bc}	1.14 ^{ab}
BCTV-Svr +CMV	0.57 ^a	0.66 ^{abc}	0.56 ^a
BCTIV+CMV	0.57 ^a	0.54 ^a	0.69 ^a

میانگین‌هایی که دارای حروف متفاوت هستند، بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری دارند.

Mean in each column followed by different letters, are significantly different using Duncan test.

Table 6. Mean of treatments of bean plant

جدول ۶. میانگین تیمارهای گیاهان لوبیا

Treatment	Mean		
	Chlorophyll (microgram/gram fresh weight)		Carotenoids
	a	b	
BCTV-Svr +CMV	0.33 ^a	0.46 ^a	0.49 ^a
BCTIV+CMV	0.50 ^a	0.72 ^b	1.16 ^a
BCTV-Svr	0.78 ^{bc}	0.72 ^b	1.09 ^a
BCTIV	0.56 ^{ab}	0.85 ^b	1.19 ^a
CMV	0.58 ^{ab}	0.79 ^b	0.91 ^a
Mock	0.96 ^c	0.88 ^b	1.43 ^a

میانگین‌هایی که دارای حروف متفاوت هستند، بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی داری دارند.

Mean in each column followed by different letters, are significantly different using Duncan test.

جدول ۷. میانگین تیمارهای مربوط به وزن تر و خشک و ارتفاع گیاهان لوبیا و فلفل

Table 7. Mean treatments related to fresh and dry weights and length of beans and pepper plants

Treatment	Mean					
	Bean			Pepper		
	Length (cm)	Fresh weight (g)	Dry weight (g)	Length (cm)	Fresh weight (g)	Dry weight (g)
BCVT+BCTIV	44.66 ^b	19.18 ^a	3.16 ^{ab}	23.5 ^{bc}	4.81 ^{bc}	0.75 ^{bc}
BCVIT	70.00 ^c	23.00 ^{bc}	3.34 ^b	25.77 ^c	5.08 ^c	0.87 ^c
BCVIT+CMV	62.00 ^c	22.00 ^b	3.2 ^{ab}	23.66 ^{bc}	4.79 ^{bc}	0.68 ^{bc}
BCVT+CMV	34.17 ^a	18.94 ^a	2.90 ^a	15.00 ^a	2.02 ^a	0.21 ^a
BCVT	65.83 ^c	21.54 ^b	3.27 ^{ab}	25.05 ^c	5.00 ^c	0.87 ^c
CMV	80.83 ^d	23.30 ^{bc}	3.42 ^{bc}	19.55 ^{ab}	2.85 ^{ab}	0.29 ^{ab}
Mock	82.67 ^d	24.93 ^c	3.77 ^c	26.77 ^c	5.26 ^c	0.88 ^c

میانگین‌هایی که دارای حروف متفاوت هستند، بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی داری دارند.

Mean in each column followed by different letters, are significantly different using Duncan test.

در گیاهان لوبیا، تیمار BCTV-Svr+CMV کمترین ارتفاع را نسبت به تیمارهای دیگر داشت. داده‌های حاصل از وزن تر و خشک نیز در تیمار BCTV-Svr+CMV کمترین مقدار را دارا بود. در گیاهان فلفل تیمار BCTV-Svr+CMV کمترین ارتفاع را نسبت به تیمارهای دیگر داشت. داده‌های حاصل از وزن تر و خشک نیز در تیمار BCTV-Svr+CMV کمترین مقدار را دارا بود (جدول ۷).

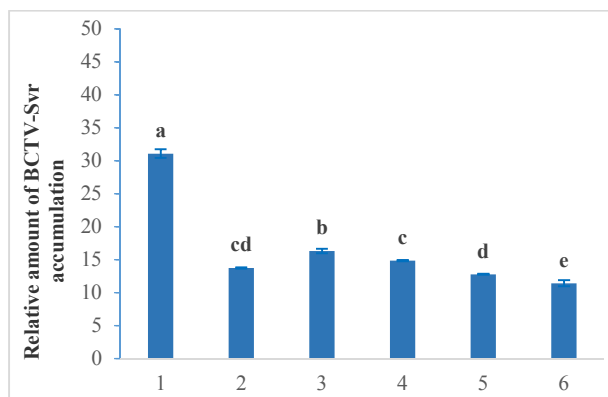
گیاهان لوبیا نشان داد که تیمارها در میزان کلروفیل a در سطح یک درصد و کلروفیل b در سطح پنج درصد اختلاف معنی داری داشتند. در بین تیمارها، BCTV-Svr+CMV دارای کمترین میانگین کلروفیل a و b بود. در حالیکه تجزیه واریانس داده‌های کاروتنوئید نشان داد که بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی داری نبود (جدول ۶).

شاخص‌های رشدی

تعیین شاخص شدت بیماری (disease severity index)

نتایج حاصل از محاسبه شاخص شدت بیماری در

بررسی داده‌های ارتفاع، وزن تر و خشک گیاهان لوبیا و فلفل نشان داد که در سطح احتمال یک درصد بین تیمارهای مورد بررسی اختلاف معنی دار آماری وجود داشت.



شکل ۴. میزان نسبی تجمع BCTV-Svr در گیاهان چغندرقتند. ستون ۱. آلودگی BCTV-Svr+ BCTIV بعد از پنج هفته، ستون ۲. آلودگی BCTV-Svr بعد از پنج هفته، ستون ۳. آلودگی BCTV-Svr+CMV بعد از پنج هفته، ستون ۴. آلودگی BCTV-Svr+CMV بعد از چهار هفته، ستون ۵. آلودگی BCTV-Svr بعد از چهار هفته، ستون ۶. آلودگی BCTV-Svr+CMV بعد از سه هفته.

Fig 4. The relative amount of BCTV-Svr accumulation in sugar beet plants. Column (c) 1. BCTIV + BCTV-Svr after five weeks; c 2. BCTV-Svr after five weeks; c 3. BCTV-Svr + CMV after five weeks; c 4. BCTV-Svr + CMV after four weeks; c 5. BCTV-Svr after four weeks; c 6. BCTV-Svr + CMV after three weeks.

آلودگی آن به تنهایی داشت. همچنین در آلودگی‌های مخلوط BCTV-Svr+CMV نیز تجمع BCTV-Svr (شکل ۵، راهک سوم) نسبت به آلودگی آن به تنهایی (شکل ۵، راهک دوم) بیشتر بود. در راهک چهارم نیز که مربوط به آلودگی BCTV-Svr+CMV در هفته چهارم است میزان تجمع ویروس نسبت به آلودگی منفرد این ویروس (BCTV-Svr) (شکل ۵، راهک پنجم) بیشتر بود. در هفته سوم از نمونه با آلودگی منفرد BCTV-Svr قطعه‌ای تکثیر نشد ولی در آلودگی مخلوط تکثیر ضعیفی (شکل ۵، راهک ششم) مشاهده شد.

ردیابی ویروس‌ها در گیاهان لوبیا نیز انجام شد و نتایج به دست آمده نشان داد که در تیمار BCTV-Svr منفرد بعد

جدول ۸. شاخص شدت بیماری در تیمارهای مختلف

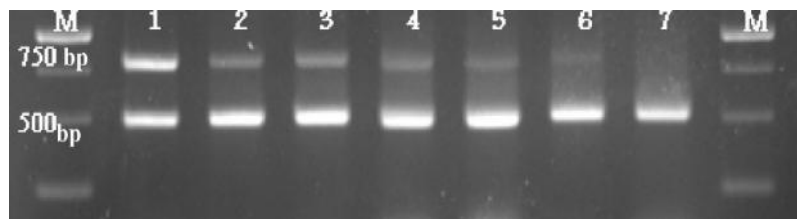
Table 8. Disease severity index in different treatments

Treatment	Disease severity index		
	Sugar beet	Bean	Pepper
BCTV-Svr+BCTIV	0.38	0.47	0.44
BCTV-Svr+CMV	0.30	0.45	0.72
BCTIV+CMV	0.24	0.27	0.57
BCTV-Svr	0.22	0.32	0.37
BCTIV	0.20	0.22	0.32
CMV	0.15	0.2	0.45
Mock	0.12	0.15	0.22
BCTV-Svr/CMV	0.24		
CMV/BCTV-Svr	0.24		
BCTIV/CMV	0.20		
CMV/BCTIV	0.20		

گیاهان چغندرقتند نشان داد که تیمارهای BCTV-Svr+CMV و Svr+BCTIV دارای بیشترین شاخص شدت بیماری بودند و بیشتر از سایر تیمارها در ایجاد بیماری نقش داشتند. همچنین برای گیاهان لوبیا نیز تیمار مخلوط BCTV-Svr+CMV بالاترین شاخص بیماری را نشان داد. بررسی شاخص شدت بیماری در گیاهان فلفل نیز نشان داد تیمار BCTV-Svr+CMV را در بالاترین شاخص بیماری قرار داد، داده‌های شاخص شدت بیماری تیمارهای مختلف در جدول ۸ آورده شده‌اند.

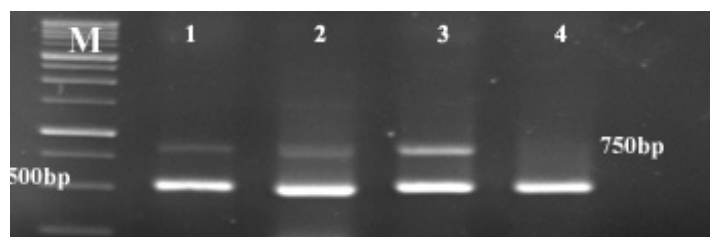
آزمون پی سی آر و پی سی آر نیمه کمی

پس از انجام آزمون نیمه کمی پی سی آر در گیاهان چغندرقتند، باندهای ویروسی تیمارهای مخلوط و منفرد مربوط به BCTV-Svr توسط نرم افزار توتال لب کمی شدند (شکل ۴) و تفاوت تکثیر ویروس در تیمارهای مختلف به دست آمد (شکل ۵). شدت باندهای قطعات تکثیرشده که مربوط به آلودگی مخلوط BCTV-Svr+BCTIV بود؛ از سایر راهک‌ها قوی‌تر بود (شکل ۵، راهک اول)، هفته پنجم در آلودگی مخلوط این دو ویروس، تجمع BCTV-Svr افزایش چشمگیری نسبت به



شکل ۵. مقایسه تجمع BCTV-Svr در گیاهان چغندر قند با آلودگی مخلوط و منفرد با آغازگرهای مربوطه (باند ۷۵۰ bp مربوط به BCTV-Svr) در گیاهان چغندر قند. راهک ۱. گیاه آلوده به BCTV-Svr+ BCTIV بعد از پنج هفته، راهک ۲. گیاه آلوده به BCTV-Svr بعد از پنج هفته، راهک ۳. گیاه آلوده به BCTV-Svr+CMV بعد از پنج هفته، راهک ۴. گیاه آلوده به BCTV-Svr+CMV بعد از چهار هفته، راهک ۵. گیاه آلوده به BCTV-Svr بعد از چهار هفته، راهک ۶. گیاه آلوده به BCTV-Svr+CMV بعد از سه هفته، راهک ۷. کنترل منفی. (باند ۵۰۰ bp مربوط به کنترل داخلی است).

Fig 5. Comparing of single and co-infection of BCTV-Svr accumulation in sugar beet plants. Lane 1. Plant infected with BCTV-svr + BCTIV after five weeks; Lane 2. Plant infected with BCTV-svr after five weeks; Lane 3. Plant infected with BCTV-svr + CMV after five weeks; Lane 4. Plant infected with BCTV-svr + CMV after four weeks; Lane 5. Plant infected with BCTV-svr after four weeks; Lane 6. Plant infected with BCTV-svr + CMV after three weeks; 7. Negative control (500bp bound related to internal control).



شکل ۶. مقایسه تجمع BCTV-Svr در گیاهان لوبیا با آلودگی مخلوط و منفرد. راهک ۱. گیاه آلوده به BCTV-Svr بعد از دو هفته، ۲. گیاه آلوده به BCTV-Svr + CMV بعد از یک هفته، ۳. گیاه آلوده به BCTV-Svr + CMV بعد از دو هفته، ۴. کنترل منفی

Fig 6. Comparing of single and co-infection of BCTV-Svr accumulation in bean plants. Lane 1. Plant infected with BCTV-Svr after two weeks; Lane 2. Plant infected with BCTV-Svr + CMV after one week; Lane 3. Plant infected with BCTV-Svr + CMV after two week; Lane 4. Negative control.

چغندر قند در تیمار BCTV-Svr+CMV افزایش تجمع BCTV-Svr مشخص شد.

بحث

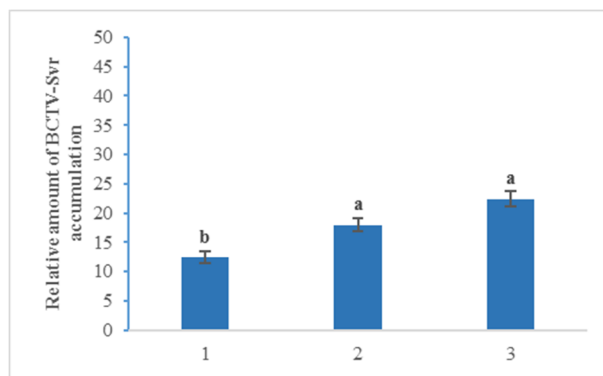
بررسی تاثیر دما بر فعالیت CMV، BCTV-Svr و BCTIV در گیاه چغندر قند در آلودگی های مخلوط و منفرد نشان داد که در دمای 20 ± 1 درجه سلسیوس علائم شاخص بیماری پیچیدگی بوته در چغندر قند ظاهر نشد. در حالیکه در دمای 26 ± 1 درجه سلسیوس علائم بیماری به

از یک هفته قطعه ای تکثیر نشد (شکل ۶) و فقط در آلودگی های مخلوط BCTV-Svr+CMV، ویروس قابل ردیابی بود (شکل ۶، راهک دوم)؛ با این وجود بعد از هفته دوم در تیمار منفرد BCTV-Svr ویروس ردیابی شد (شکل ۶، راهک اول) ولی میزان تکثیر BCTV-Svr در تیمار BCTV-Svr+CMV نسبت به آلودگی های منفرد بیشتر بود (شکل ۶، راهک سوم).

میزان تجمع ویروس ها در تیمارهای مختلف توسط نرم افزار نیمه کمی شد (شکل ۷) و نتایج آن نیز مانند گیاهان

Papaya (virus, PRSV) و ویروس موزاییک پاپایا (*Papaya mosaic virus, PapMV*) ترتیب آلودگی ویروس موثر است، بطوریکه اگر میزبان ابتدا با PRSV آلوده شود برهمکنش بصورت هم‌افزایی و در صورتی که *PapMV*، ۳۰ روز قبل از PRSV گیاه را آلوده کند برهمکنش بصورت آنتاگونیستی مشاهده می‌شود (Chavez-Calvillo *et al.* 2016).

در آلودگی مخلوط BCTV-Svr و CMV و همچنین BCTV-Svr+BCTV در چغندر قند مقاوم به بیماری پیچیدگی بوته (رقم 853 BTS) منجر به ظهور زودتر و شدیدتر علائم بیماری پیچیدگی بوته نسبت به سایر تیمارها شد. نتایج مشابه در گیاهان لوبیا رقم اختر و فلفل نیز بدست آمد. تاثیر آلودگی مخلوط CMV با BCTV بر شدت علائم این ویروس (BCTV) کمتر از تاثیر آلودگی CMV با BCTV بود؛ در حالیکه تاثیر آلودگی مخلوط CMV با BCTV بیشتر بر پارامترهایی مانند فتوسنتز و میزان کلروفیل گیاه چغندر قند بود. مکانیسم‌های برهمکنش و عامل تشدید علائم بیماری پیچیدگی بوته در آلودگی مخلوط با ویروس موزاییک خیار و افزایش تجمع BCTV-Svr نامشخص است و نیاز به بررسی دارد. هر چند گزارش‌های متعددی ژن 2b ویروس موزاییک خیار را به عنوان سرکوب کننده سیستم خاموشی دفاعی گیاه علیه ویروس معرفی کرده است و نقش آن اثبات شده است (Brigneti *et al.* 1998). در تحقیق حاضر در آلودگی مخلوط BCTV-Svr+CMV علاوه بر افزایش شدت علائم نسبت به آلودگی منفرد، افزایش تجمع BCTV-Svr نیز مشاهده شد. در آلودگی مخلوط ویروس وای سیب زمینی و ویروس موزاییک خیار ثابت شده است که ژن 2b باعث افزایش تجمع و گسترش ویروس وای سیب زمینی می‌شود (Ryang *et al.* 2004). به نظر می‌رسد برهمکنش بین



شکل ۷. میزان نسبی تجمع BCTV-Svr در گیاهان لوبیا. ستون ۱. آلودگی BCTV-Svr بعد از دو هفته، ستون ۲. آلودگی BCTV-Svr + CMV بعد از یک هفته، ستون ۳. آلودگی BCTV-Svr + CMV بعد از دو هفته.

Fig 7. The relative amount of BCTV-Svr accumulation in bean plants. Column (c) 1. BCTV-Svr infection after two weeks; c 2. BCTV-Svr + CMV infection after one week; c 3. BCTV-Svr + CMV infection after two weeks.

وضوح در گیاهان قابل مشاهده بود. این نتایج با مطالعه تاثیر دما بر آلودگی جدایه ایرانی پیچیدگی بوته چغندر قند (Ghodoum *et al.* 2013) مطابقت دارد.

در همه صفات مورد بررسی بین تیمارهای غیرهم‌زمان که ترتیب زمانی مایه‌زنی لحاظ شده بود اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری با تیمارهای هم‌زمان مشاهده نشد. در نتایج نمره‌دهی، تیمارهای دارای آلودگی انفرادی BCTV-Svr با تیمارهایی که ترتیب زمانی مایه‌زنی در آنها اعمال شده بود در یک گروه آماری قرار گرفتند در حالیکه تیمارهای با آلودگی مخلوط هم‌زمان BCTV-Svr+CMV در همه موارد از شدت بیماری‌زایی بیشتری نسبت به تیمارهای آلودگی غیرهم‌زمان که فاصله مایه‌زنی در آنها اعمال شده بود برخوردار بودند، بنابراین تاثیر ترتیب مایه‌زنی ویروس در رابطه برهمکنش ویروس‌ها موثر نبود، در حالیکه در مورد ویروس‌های دیگر مانند آلودگی پاپایا توسط ویروس نقش حلقوی پاپایا (*Papaya ring spot*)

در آزمایش حاضر کاهش شدیدی در نرخ فتوستتوز و میزان کلروفیل در گیاهان به خصوص در آلودگی‌های مخلوط مشاهده شد. در مورد تاثیر BCTV-Svr بر فتوستتوز گیاه مشخص شد که این ویروس با تخریب آوند-ها در نقل و انتقال قند ساکارز و نشاسته اختلال ایجاد می‌کند به طوری که سطح تجمع این قند در گیاهان آلوده نسبت به گیاهان شاهد ده برابر بیشتر است و همچنین در گیاهان آلوده ۵۰ تا ۲۰ درصد کاهش فتوستتوز رخ داده است (Swiech et al. 2001).

از نتایج به دست آمده از شدت علائم بیماری در تمام تیمارهای بررسی شده در هر سه میزبان چغندرقد، لوبیا و فلفل، می‌توان نتیجه گرفت که برهمکنش این ویروس‌ها وابسته به میزبان نیست. تنها تیمار BCTV-Svr+BCTIV در گیاهان فلفل برخلاف دو میزبان دیگر، از شدت بیماری‌زایی بالایی برخوردار نبود. به نظر می‌رسد که جدایه ایرانی ویروس پیچیدگی بوته چغندرقد در رقم کالیفرنیا واندر فلفل از راندمان بیماری‌زایی پایینی برخوردار باشد. به علاوه ۳۵ روز بعد از مایه‌زنی این ویروس در گیاهان فلفل نیز بهبودی مشاهده شد. همچنین در گیاه لوبیا رقم گلی نیز علائم شاخص بیماری مشاهده نشد که احتمالاً به دلیل وجود ژن مقاومت به بیماری پیچیدگی بوته چغندرقد است. در آزمایشی مشخص شده که در رقمی از لوبیای معمولی، ژن (*Bct*) مقاومت به پیچیدگی بوته چغندرقد وجود دارد (Larsen & Miklas 2004). با توجه به شکسته شدن مقاومت رقم مقاوم چغندرقد در آلودگی مخلوط ویروس‌های مورد بررسی پیشنهاد می‌شود از ارقامی استفاده شود که نسبت به هر دو ویروس مقاوم باشند.

BCTV-Svr و CMV به واسطه مکانیسمی مشابه ایجاد شده باشد. همچنین ژن C2 عامل پیچیدگی بوته چغندرقد (BCTV-Svr) در افزایش همانندسازی دی ان ای و فراهم کردن شرایط سلولی برای همانند سازی ویروس‌های با ژنوم دی ان ای نقش دارد و به عنوان یک مکانیسم جدید در هم‌افزایی شناخته شده است، به عنوان مثال نشان داده شده که ژن C2 سبب افزایش همانندسازی در ویروس ساردینیای پیچیدگی برگ زرد گوجه فرنگی (*Tomato yellow leaf curl Sardinia virus, TYLCSV*) در گیاه *Nicotiana benthamiana* است (Caracuel et al. 2012). همچنین مشخص شده که ژن V2 در BCTV-Svr به عنوان سرکوب کننده قوی مکانیسم خاموشی پس از رونویسی یا *post transcriptional gene silencing* عمل می‌کند (Luna et al. 2017). با توجه به این نتایج تا حدودی می‌توان مکانیسم هم‌افزایی بین BCTV-Svr و BCTIV را به سرکوب کننده ویروس نسبت داد هر چند لازم است برای اثبات این فرضیه بررسی‌های آزمایشگاهی انجام شود.

نتایج حاصل از ردیابی ژنوم ویروس‌ها و مقایسه نیمه کمی، میزان تجمع ویروس‌ها در تیمارهای مورد بررسی با شدت علائم ناشی از آنها، مطابقت داشت. سطح تجمع BCTV-Svr در آلودگی‌های مخلوط با CMV در مقایسه با تیمار منفرد این ویروس (BCTV-Svr) بیشتر بود و این نتیجه حاکی از شکسته شدن مقاومت گیاه در آلودگی مخلوط این ویروس‌ها است. در آلودگی مخلوط BCTV-Svr+BCTIV در چغندرقد و گوجه فرنگی، میزان تجمع هر دو ویروس در تیمار مخلوط نسبت به تیمارهای منفرد افزایش می‌یابد (Taheri et al. 2014). نتایج مطالعه حاضر در مورد برهمکنش BCTV-Svr+BCTIV و همچنین BCTV-Svr+CMV با این نتایج مطابقت دارد.

سپاسگزاری

گروه زراعت دانشکده کشاورزی برای کمک در بررسی شاخص‌های فیزیولوژیک گیاهان مورد مطالعه تشکر و قدردانی می‌شود.

از دانشگاه تربیت مدرس برای حمایت مالی و همچنین

منابع

- Barrett, L.G., Kniskern, J.M., Bodenhausen, N., Zhang, W. and Bergelson, J. 2009. Continua of specificity and virulence in plant host-pathogen interactions: causes and consequences. *New Phytologist* 183: 513-529.
- Briddon, R.W., Stenger, D.C., Bedford, I.D., Stanley, J., Izadpanah, K. and Markham, P.G., 1998. Comparison of a beet curly top virus isolates originating from the old world with those from the new world. *European Journal of Plant Pathology* 104(1): 77-84.
- Brigneti, G., Voinnet, O., Li, W.X., Ji, L.H., Ding, S.W. and Baulcombe, D.C. 1998. Viral pathogenicity determinants are suppressors of transgene silencing in *Nicotiana benthamiana*. *The EMBO Journal*, 17: 6739-6746.
- Butterbach, P., Verlaan, M. G., Dulleman, A., Lohuis, D., Visser, R. G., Bai, Y., and Kormelink, R. 2014. Tomato yellow leaf curl virus resistance by Ty-1 involves increased cytosine methylation of viral genomes and is compromised by Cucumber mosaic virus infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 111: 12942-12947.
- Caracuel, Z., Lozano-Durán, R., Huguet, S., Arroyo-Mateos, M., Rodríguez-Negrete, E.A. and Bejarano, E.R., 2012. C2 from Beet curly top virus promotes a cell environment suitable for efficient replication of geminiviruses, providing a novel mechanism of viral synergism. *New Phytologist* 194: 846-858.
- Chavez-Calvillo, G., Contreras-Paredes, C.A., Mora-Macias, J., Noa-Carrazana, J.C., Serrano-Rubio, A.A., Dinkova, T.D., Carrillo-Tripp, M. and Silva-Rosales, L. 2016. Antagonism or synergism between papaya ringspot virus and papaya mosaic virus in *Carica papaya* is determined by their order of infection. *Virology* 489: 179-191.
- Doyle, J.J. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* 19: 11-15.
- Ebadzad, G., Behjatnia, S.A.A. and Izadpanah, K. 2008. Infectivity of the cloned genome of Iranian isolate of Beet severe curly top virus in experimental hosts. *Iranian Journal of Plant Pathology* 44: 9-15. (in Persian with English Summary).
- Elena, S.F., Bedhomme, S., Carrasco, P., Cuevas, J.M., de la Iglesia, F., Lafforgue, G., Lalić, J., Pròsper, À., Tromas, N. and Zwart, M.P. 2011. The evolutionary genetics of emerging plant RNA viruses. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 24(3): 287-293.
- Faria, J.C., Albino, M.M., Dias, B.B., Caçado, L.J., da Cunha, N.B., Silva, L.d.M., Vianna, G.R. and Aragao, F.J. 2006. Partial resistance to Bean golden mosaic virus in a transgenic common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) line expressing a mutated rep gene. *Plant Science* 171(5): 565-571.
- García-Arenal, F. and Palukaitis, P. 2008. Cucumber mosaic virus. *Desk encyclopedia of Plant and Fungal Virology* 171-176.
- García-Cano, E., Resende, R.O., Fernández-Muñoz, R. and Moriones, E. 2006. Synergistic interaction between Tomato chlorosis virus and Tomato spotted wilt virus results in breakdown of resistance in tomato. *Phytopathology* 96(11): 1263-1269.
- Gharouni Kardani, S., Heydarnejad, J., Zakiaghil, M., Mehrvar, M., Kraberger, S. and Varsani, A. 2013. Diversity of Beet curly top Iran virus isolated from different hosts in Iran. *Virus Genes* 46(3): 571-575.
- Ghodoum, P.M., Behjatnia, S.A.A. and Izadpanah, K. 2013. Effect of temperature on the infection of sugar beet plants by Beet severe curly top virus and on recovery of virus-infected plants. *Iranian Journal of Plant Pathology* 49: 552-553. (in Persian with English Summary).
- Ghorbani, S., Shahraeena, N. and Elahinia, S. 2010. Distribution and impact of virus associated diseases of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in northern Iran. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 43(12): 1183-1189.

- Gildow, F., Shah, D., Sackett, W., Butzler, T., Nault, B. and Fleischer, S. 2008. Transmission efficiency of Cucumber mosaic virus by aphids associated with virus epidemics in snap bean. *Phytopathology* 98: 1233-1241.
- Grimsley, N., Hohn, B., Hohn, T. and Walden, R. 1986. "Agroinfection," an alternative route for viral infection of plants by using the Ti plasmid. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 83(10): 3282-3286.
- Hammond, J., Lecoq, H., and Raccach, B. 1999. Epidemiological risks from mixed virus infections and transgenic plants expressing viral genes. *Advances in Virus Research* 54: 189-314.
- Heydarnejad, J., Keyvani, N., Razavinejad, S., Massumi, H. and Varsani, A. 2013. Fulfilling Koch's postulates for Beet curly top Iran virus and proposal for consideration of new genus in the family Geminiviridae. *Archives of Virology* 158: 435-443.
- Kamali, M., Heydarnejad, J., Massumi, H., Kvarnheden, A., Kraberger, S., and Varzani, A. 2016. Molecular diversity of turncurtoviruses in Iran. *Archives of Virology* 161: 551-561.
- Larsen, R.C. and Miklas, P.N., 2004. Generation and molecular mapping of a sequence characterized amplified region marker linked with the Bct gene for resistance to Beet curly top virus in common bean. *Phytopathology* 94(4): 320-325.
- Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148: 350-382.
- Luna, A.P., Rodríguez-Negrete, E.A., Morilla, G., Wang, L., Lozano-Durán, R., Castillo, A.G. and Bejarano, E.R., 2017. V2 from a curtovirus is a suppressor of post-transcriptional gene silencing. *Journal of General Virology* 98(10): 2607-2614.
- Martín, S. and Elena, S.F. 2009. Application of game theory to the interaction between plant viruses during mixed infections. *Journal of General Virology* 90: 2815-2820.
- Montazeri, R., Shams-Bakhsh, M., Mahmoudi, S.B. and Rajabi, A. 2016. Evaluation of sugar beet lines for resistance to Beet curly top viruses. *Euphytica* 210: 31-40.
- Murphy, J.F. and Bowen, K.L. 2006. Synergistic disease in pepper caused by the mixed infection of Cucumber mosaic virus and Pepper mottle virus. *Phytopathology* 96: 240-247.
- Palukaitis, P. and García-Arenal, F. 2003. Cucumoviruses. *Advances in Virus Research* 62: 241-323.
- Pruss, G., Ge, X., Shi, X.M., Carrington, J.C. and Vance, V.B. 1997. Plant viral synergism: the potyviral genome encodes a broad-range pathogenicity enhancer that transactivates replication of heterologous viruses. *The Plant Cell* 9: 859-868.
- Ryang, B.-S., Kobori, T., Matsumoto, T., Kosaka, Y. and Ohki, S.T. 2004. Cucumber mosaic virus 2b protein compensates for restricted systemic spread of Potato virus Y in doubly infected tobacco. *Journal of General Virology* 85: 3405-3414.
- Strausbaugh, C.A., Wintermantel, W.M., Gillen, A.M. and Eujayl, I.A., 2008. Curly top survey in the western United States. *Phytopathology* 98: 1212-1217.
- Swiech, R., Browning, S., Molsen, D., Stenger, D.C. and Holbrook, G.P. 2001. Photosynthetic responses of sugar beet and *Nicotiana benthamiana* infected with Beet curly top virus. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 58: 43-52.
- Taheri H., Izadpanah K., Behjatnia S.A.A. 2014. Synergism interaction between Beet severe curly top virus and Beet curly top Iran virus in sugar beet and tomato. In: *Proceedings of the 21st Iranian Plant Protection Conference*, p. 398. Urmia University, Urmia, Iran. (in Persian with English Summary).