

Effects of cucumber mosaic virus and alfalfa mosaic virus infections on the morphological and physiological characteristics of the bell pepper (*Capsicum annuum* L.)

1. Mahda Saghzade Mahani¹: Plant Pathology Department, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
2. Hasan Zeitooni²: Plant Pathology Department, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
3. Masoud Shams-Bakhsh^{3*}: Plant Pathology Department, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

*Corresponding Author's Email Address: shamsbakhsh@modares.ac.ir

Article Type:

Original Research

Received: 10 March 2025

Revised: 30 March 2025

Accepted: 02 April 2025

How to Cite: Saghzade Mahani, M., Zeitooni, H., & Shams-Bakhsh, M. (2024). Effects of cucumber mosaic virus and alfalfa mosaic virus infections on the morphological and physiological characteristics of the bell pepper (*Capsicum annuum* L.). *Iranian Journal of Plant Pathology*, 60(2), 148-167.

DOI: 10.22034/IJPP.2025.2021842.478

Abstract:

Bell pepper (*Capsicum annuum* L.), in Solanaceae family plays a vital role in a healthy diet due to its fiber, vitamins, and minerals. Bell pepper production is significantly affected by viral, bacterial, fungal, and nematode infection. This study aimed to examine effects of cucumber mosaic virus (*Cucumovirus* CMV) and alfalfa mosaic virus (*Alfamovirus* AMV) infections on the morphological and physiological characteristics of the bell pepper cultivar California Wonder. The traits assessed included plant height, greenness index, leaf area index (LAI), fresh and dry weight of the plant, fresh fruit weight, total phenol content, vitamin C, chlorophyll a and b, carotenoids, and proximate composition, including moisture, protein, crude fiber, ash, crude fat, and carbohydrates. The results indicated that infection with CMV and AMV resulted in a significant reduction in plant height, greenness index, LAI, fresh and dry weight of the plant, chlorophyll a and b, carotenoids, vitamin C, and fresh fruit weight. No significant change was found in the total phenol content between infected and control plants. The percentages of moisture, protein, ash, crude fat, and carbohydrates were not affected by viral infections. However, the percentage of crude fiber significantly increased in infected plants. Overall, the findings of this study suggest that infection to CMV and AMV, reduces growth, yield, fresh fruit weight and vitamin C, leading to a decline in the nutritional value of bell pepper fruits.

Keywords: bell pepper, cucumber mosaic virus (CMV), alfalfa mosaic virus (AMV), Vitamin C



© 2024 the authors. Published by Maher Publishing Institute. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) License.

Extended Abstract

Introduction

Bell pepper (*Capsicum annuum* L.), a member of the Solanaceae family, is valued worldwide for its nutritional and health benefits due to its rich content of fiber, vitamins, and minerals, while being low in fat and calories (Anaya-Esparza et al., 2021; Thuphairo et al., 2019). Its bioactive phytochemicals—including phenolics, flavonoids, carotenoids, capsaicinoids, and tocopherols—contribute to human health by providing antioxidant, anti-inflammatory, and therapeutic properties (Wahyuni et al., 2013). However, bell pepper productivity and fruit quality are highly vulnerable to viral infections that cause significant agronomic and economic losses. Among the most destructive viruses are cucumber mosaic virus (CMV; *Cucumovirus* CMV) and alfalfa mosaic virus (AMV; *Alfamovirus* AMV), which induce mosaic patterns, chlorosis, leaf deformation, and growth suppression (Ayazpour, 2014). Such infections negatively affect plant morphological and physiological traits including plant height, leaf area index (LAI), photosynthetic pigments, fruit yield, and biochemical composition (Kim et al., 2010; Pazarlar et al., 2013). Additionally, CMV and AMV can compromise fruit nutritional value by reducing chlorophylls, carotenoids, and vitamin C, components vital to human diet and antioxidant defenses (Martins et al., 2023; Rahman et al., 2019).

This study investigated the effects of CMV and AMV infections on the morphological and physiological characteristics of bell pepper (*Capsicum annuum* L.) under greenhouse conditions. The assessed parameters, crucial for crop yield and nutritional value, included plant growth (height, LAI, fresh and dry biomass), leaf greenness, and concentrations of chlorophyll a, chlorophyll b, and carotenoids. Additionally, analyses were performed on total phenolic content, ascorbic acid (vitamin C) levels, and the proximate composition. The antioxidant activity of the infected plants was also evaluated.

Materials and Methods

Seeds of bell pepper cultivar ‘California Wonder’ were germinated and grown under controlled greenhouse conditions with optimal temperature (15–26 °C) and natural light. Two viral isolates were used: CMV-Fny (sourced from infected cucumber) and AMV (Leiden strain 425) from tobacco (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun). Mechanical inoculation was performed on two- to three-leaf stage seedlings using phosphate buffer and virus inoculum prepared from infected plant tissues. Successful infection was confirmed by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) using virus-specific primers and back-inoculation on indicator plants such as cucumber and *Nicotiana clevelandii*.

A completely randomized design was applied with 15 replicates per treatment: CMV-inoculated plants, AMV-inoculated plants, and mock-inoculated controls. Morphological indices (plant height, LAI, fresh and dry weights of shoots and fruits) were measured using Delta-T equipment and gravimetric methods. Greenness was assessed using a SPAD-502 chlorophyll meter. Photosynthetic pigments content, including chlorophyll a, b, and carotenoids were quantified spectrophotometrically following Arnon (1949). Vitamin C content was determined via iodine titration (Helmenstine, 2024). Total phenolic content was assayed using the Folin–Ciocalteu method (Ainsworth & Gillespie, 2007). Proximate analysis included determination of moisture, crude fiber (AOAC 978.10; (Thiex et al., 2019), protein (Kjeldahl method with 4.4 nitrogen-to-protein conversion factor; (Mariotti et al., 2008)), fat (petroleum ether extraction), ash, and carbohydrate content (calculated by difference; (Bakhtiar et al., 2024)). Data were analyzed using a general linear model (GLM) in Minitab software. Traits were also clustered by heatmap analysis to visualize viral impact patterns.

Results

Mechanical inoculation successfully established systemic CMV and AMV infections, confirmed by characteristic mosaic, yellowing, leaf curling, and stunting symptoms that intensified by 30 to 90 days post-inoculation. CMV caused more severe deformities and delayed fruit set compared to AMV.

Both viruses significantly reduced plant height and LAI relative to controls ($p < 0.01$). CMV-infected plants exhibited a 33.4% height reduction, while AMV reduced height by 42.6%. Similar declines were observed in fresh and dry shoot biomass: CMV decreased fresh weight by ~62.8% and dry weight by ~74.7%, whereas AMV caused ~47.4% and ~39.6% reductions, respectively. Fresh fruit weight also dropped markedly under both infections, with CMV imposing the greatest yield loss.

Leaf greenness (SPAD index) decreased significantly in both CMV- and AMV-infected plants. Chlorophyll a and b concentrations and total carotenoids also declined under infection ($p < 0.01$), though carotenoid reduction was more pronounced in CMV than AMV treatments. Total phenolic content, however, did not differ significantly between infected and control plants in either leaves or fruits.

Vitamin C content decreased substantially following viral infection. CMV caused the strongest reduction—up to 79.8% compared to healthy controls—while AMV also significantly diminished vitamin C levels, albeit less severely.

Analysis of proximate fruit composition showed no significant changes in moisture, protein, ash, fat, or carbohydrate percentages between treatments. However, crude fiber content increased notably in infected fruits, suggesting cell wall remodeling under viral stress.

Heatmap clustering grouped the evaluated traits into three distinct clusters, revealing differential viral effects. Moisture formed an independent cluster; greenness, carotenoids, and carbohydrates clustered together; while chlorophylls, plant growth parameters, vitamin C, and proximate metrics like fiber and ash formed a larger group. CMV exerted stronger

suppressive effects on greenness, chlorophyll a, plant height, and vitamin C, while AMV had greater influence on chlorophyll b.

Discussion

The present findings confirm that CMV and AMV infections profoundly disrupt bell pepper growth, physiology, and fruit nutritional quality. Significant reductions in plant height, LAI, and biomass under both viruses align with earlier reports of CMV- and AMV-induced stunting and biomass loss in peppers (Hosseini et al., 2021; Pazarlar et al., 2013). The decline in chlorophyll content and leaf greenness parallels prior studies linking CMV infection with impaired chlorophyll biosynthesis (Rahman et al., 2019; Shakeel et al., 2016). Reduced chlorophyll and carotenoids not only weaken photosynthetic output but also lower antioxidant potential and nutritional value (Martins et al., 2023). Vitamin C depletion in infected fruits is especially concerning, given its central role in antioxidant defense and consumer health. The magnitude of reduction under CMV corroborates earlier findings in *Capsicum* and other crops experiencing viral stress (Azam et al., 2017; Zarrillo et al., 2017). Crude fiber enrichment suggests stress-induced structural reinforcement of cell walls, a response also noted under other biotic challenges (Nitiema & Sombié, 2019).

Conflict of Interest

There is no conflict of interest in conducting the present study.

Ethical Considerations

All ethical principles and standards were fully observed in the conduct of this research.

Acknowledgments

The authors would like to express their sincere gratitude to all those who contributed to the various stages of this study.

تاثیر آلودگی به ویروس موزائیک خیار و ویروس موزائیک یونجه بر ویژگی‌های ریخت‌شناسی و فیزیولوژیکی گیاه فلفل دلمه‌ای (*Capsicum annuum* L.)

۱. مه‌دا سقازاده ماهانی^{id}: گروه بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۲. حسن زیتونی^{id}: گروه بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۳. مسعود شمس بخش^{id}: گروه بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

*پست الکترونیک نویسنده مسئول: shamsbakhsh@modares.ac.ir

نوع مقاله:

چکیده

پژوهشی اصیل

فلفل دلمه‌ای (*Capsicum annuum* L.) از تیره Solanaceae، به دلیل دارا بودن فیبر، ویتامین‌ها و مواد معدنی، نقش مهمی در رژیم غذایی سالم ایفا می‌کند. تولید فلفل دلمه‌ای به شدت تحت تاثیر آلودگی‌های ویروسی، باکتریایی، قارچی و نماتدی قرار دارد. این پژوهش با هدف بررسی تاثیر آلودگی ویروس موزائیک خیار (*Cucumovirus CMV*) و ویروس موزائیک یونجه (*Alfamovirus AMV*) بر ویژگی‌های رشدی و فیزیولوژیکی فلفل دلمه‌ای رقم کالیفرنیا و اندر انجام شد. صفات مورد بررسی شامل ارتفاع بوته، میزان سبزی‌نگی، شاخص سطح برگ، وزن تر و خشک بوته، وزن تر میوه، میزان فنل کل، محتوای ویتامین ث، کلروفیل a و b، کاروتنوئیدها و ترکیب تقریبی شامل رطوبت، پروتئین، فیبر خام، خاکستر، چربی خام و کربوهیدرات بود. نتایج نشان داد که آلودگی به ویروس موزائیک خیار و ویروس موزائیک یونجه منجر به کاهش معنی‌دار ارتفاع بوته، میزان سبزی‌نگی، شاخص سطح برگ، وزن تر و خشک بوته، میزان کلروفیل a و b، ویتامین ث و وزن تر میوه شد، با وجود این، میزان فنل کل، درصد رطوبت، پروتئین، خاکستر، چربی خام و کربوهیدرات تحت تاثیر آلودگی به ویروس‌ها قرار نگرفت. درصد فیبر خام در گیاهان آلوده به طور معنی‌داری افزایش یافت. به طور کلی، نتایج این مطالعه نشان داد که آلودگی به ویروس موزائیک خیار و ویروس موزائیک یونجه با کاهش رشد و عملکرد، کاهش وزن تر میوه و همچنین کاهش ویتامین ث، منجر به کاهش ارزش غذایی محصول فلفل دلمه‌ای می‌شود.

تاریخ دریافت: ۲۰ اسفند ۱۴۰۳

تاریخ بازنگری: ۱۰ فروردین ۱۴۰۴

تاریخ پذیرش: ۱۳ فروردین ۱۴۰۴

نحوه استناددهی: سقازاده ماهانی، مه‌دا، زیتونی، حسن، و شمس‌بخش، مسعود. (۱۴۰۳). تاثیر آلودگی به ویروس موزائیک خیار و ویروس موزائیک یونجه بر ویژگی‌های ریخت‌شناسی و فیزیولوژیکی گیاه فلفل دلمه‌ای (*Capsicum annuum* L.).

بیماری‌های گیاهی، ۶۰(۲)، ۱۶۷-۱۴۸.

DOI:

10.22034/IJPP.2025.2021842.478

کلیدواژه‌ها: فلفل دلمه‌ای، *CMV*، *AMV* ویتامین ث



مجوز و حق نشر: © ۱۴۰۳ تمامی حقوق انتشار این مقاله متعلق به نویسنده است. انتشار این مقاله توسط انتشارات ماهر به صورت دسترسی آزاد مطابق با گواهی (CC BY 4.0) صورت گرفته است.

مقدمه

حفظ یک رژیم غذایی سالم دارای سبزیجات در وعده‌های غذایی انسان اهمیت فزاینده‌ای پیدا کرده است. فلفل دلمه‌ای (*Capsicum annuum* L.) از تیره *Solanaceae*، به عنوان منبع خوبی از فیبر، ویتامین‌ها و مواد معدنی در یک رژیم غذایی سالم جایگاه ویژه‌ای دارد و با توجه به طعم، عطر و ارزش غذایی جزء سبزیجات پرمصرف ایران و دنیا است. ترکیبات مهم تغذیه‌ای تشکیل دهنده آن عبارتند از: فیبر و کربوهیدرات بالا، چربی و پروتئین پایین، ویتامین‌ها (C, A, B, D, E, K) و مواد معدنی (پتاسیم، سدیم، منیزیم، کلسیم و فسفر)؛ که با توجه به بالا بودن فیبر و پایین بودن چربی، فلفل دلمه‌ای کالری نسبتاً پایینی دارد (Anaya-Esparza et al., 2021; Thuphairo et al., 2019).

ترکیبات فیتوشیمیایی و مواد موثره فلفل دلمه‌ای شامل گروه‌های فنلی، فلاونوئید، کپسیسینوئید، کاروتنوئید، و توکوفرول است که این مواد در درمان آسم، سرفه، گلودرد و درد دندان کاربرد موثر دارند (Wahyuni et al., 2013).

طبق آمارنامه سال ۱۴۰۱ و وزارت جهاد کشاورزی، فلفل دلمه‌ای سهم ۸/۱ درصدی از میزان تولیدات گلخانه‌ای کشور دارد. از ۱۹۸۴ هکتار سطح زیرکشت گلخانه‌ای فلفل دلمه‌ای در کشور، ۲۶۹،۲۸۸ تن محصول تولید شده است که از این مقدار به ترتیب، استان‌های اصفهان، تهران، کرمان و آذربایجان شرقی بیشترین تولید را به خود اختصاص داده‌اند (Ministry of Agriculture, 2022). از طرفی، استان‌های اصفهان و کرمان از صادرکنندگان عمده این محصول به کشورهای روسیه، ترکیه، آذربایجان، امارات و عمان هستند.

تولید فلفل دلمه‌ای بر اثر آلودگی‌های ویروسی، باکتریایی، قارچی و نماتدی محدود می‌شود. از جمله ویروس‌های آلوده‌کننده فلفل دلمه‌ای می‌توان به ویروس موزائیک خیار (*Cucumovirus CMV*)، ویروس موزائیک یونجه

(*Alfamovirus AMV*)، ویروس ایرانی پیچیدگی چغندر (*Becurtovirus*)

(*betae*)، ویروس موزائیک گوجه‌فرنگی (*Tobamovirus*)، ویروس پیچیدگی برگ زرد گوجه‌فرنگی (*tomatotessellati*)، ویروس *Begomovirus coheni* و ویروس *Potyvirus* سیب‌زمینی (*yituberosi*) اشاره کرد (Ayazpour, 2014). آلودگی به ویروس می‌تواند ویژگی‌های ریخت‌شناسی و فیزیولوژیک گیاه از جمله عملکرد، ارتفاع بوته‌ها و سطح برگ، میزان سبزیگی، ترکیب تقریبی و میزان ویتامین ث فلفل دلمه‌ای را تحت تأثیر قرار دهد (Pazarlar et al., 2013).

با توجه به ارزش غذایی، دارویی و اقتصادی فلفل دلمه‌ای در ایران و دنیا، و گسترش بیماری‌های ویروسی و عدم وجود منابع کافی برای شناخت تأثیر این بیماری‌ها بر عملکرد و ارزش غذایی فلفل دلمه‌ای آلوده به ویروس؛ در این پژوهش تأثیر آلودگی به دو ویروس مهم شامل ویروس موزائیک خیار و ویروس موزائیک یونجه بر ویژگی‌های ریخت‌شناسی و فیزیولوژیک گیاه فلفل دلمه‌ای، که عملکرد و ارزش غذایی آن را تعیین می‌کنند، و ویژگی‌هایی مانند ارتفاع بوته، شاخص سطح برگ، وزن تر و خشک بوته، وزن تر میوه، میزان سبزیگی، میزان کلروفیل‌های *a*، *b* و کاروتنوئید، میزان فنل کل، ویتامین ث، ترکیب تقریبی شامل درصد کربوهیدرات، پروتئین، چربی، قند، فیبر و خاکستر و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در شرایط گلخانه‌ای مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

منبع گیاهی و شرایط رشد و نگهداری

بذر فلفل دلمه‌ای رقم کالیفرنیا و اندر از شرکت لاروزا ایتالیا تهیه و در بستر مخلوطی از پیت‌ماس، ورمی کمپوست، کوکوپیت، پرلیت و خاک گلدان کشت شدند. گیاهان به مدت حدود سه ماه تا مرحله باردهی در شرایط گلخانه با دمای حدود ۱۵-۲۶ درجه سلسیوس و نور طبیعی نگهداری شدند.

منابع ویروس‌های گیاهی و مایه‌زنی ویروس‌ها

واسرشت‌سازی اولیه به مدت سه دقیقه دردمای ۹۴ درجه سلسیوس و سپس ۳۰ چرخه شامل دمای ۹۲ درجه سلسیوس به مدت ۶۰ ثانیه، دمای اتصال به‌ترتیب ۴۷ و ۵۴ درجه سلسیوس برای آغازگرهای ویروس موزائیک یونجه و ویروس موزائیک خیار به مدت ۶۰ ثانیه و دمای گسترش ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۶۰ ثانیه و در آخر گسترش نهایی در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت پنج دقیقه بود.

اندازه‌گیری شاخص‌های رشدی

به منظور ارزیابی میزان رشد و عملکرد در گیاهان آلوده به ویروس، ارتفاع بوته، شاخص سطح برگ، وزن تر و خشک بوته و وزن تر میوه گیاهان آلوده به ویروس موزائیک خیار، ویروس موزائیک یونجه و گیاهان شاهد مورد بررسی قرار گرفت. برای اندازه‌گیری شاخص سطح برگ از دستگاه Delta-T استفاده شد.

اندازه‌گیری سبزی‌گی و میزان کلروفیل‌های a, b و کاروتنوئید

برای به دست آوردن میزان تقریبی کلروفیل برگ از دستگاه کلروفیل متر (Minolta Chlorophyll Meter SPAD – 502, Japan) استفاده شد. برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل‌های a, b و کاروتنوئید، ابتدا ۲۵ میلی‌گرم از بافت برگ هر نمونه، در ۲۰-۴۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد در هاون عصاره‌گیری شد. عصاره استونی هر نمونه، در دمای اتاق و با سانتریفیوژ روی میزی (Eppendorf centrifuge 5424, Germany) با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه انجام شد. جذب نوری فاز رویی در سه طول موج ۶۴۵، ۶۶۳ و ۴۵۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (BioTek, Epoch) اندازه‌گیری شد و با استفاده از فرمول‌های ارائه شده توسط آرنن میزان کلروفیل‌های a, b و کاروتنوئید در هر نمونه بدست آمد (Arnon, 1949).

اندازه‌گیری میزان ویتامین ث به روش تیتراسیون ید

عصاره میوه‌های نمونه برداری شده از تیمارهای مورد بررسی استخراج شد. محلول‌های نشاسته یک درصد، آسکوربیک‌اسید ۰/۲۵ درصد و ید (پنج

برای انجام این پژوهش از جدایه Fny ویروس موزائیک خیار (Palukaitis & García-Arenal, 2003) و جدایه لایدن استرین ۴۲۵ ویروس موزائیک یونجه (رس‌شمار L00163) دریافت شده از آزمایشگاه بیماری‌شناسی گیاهی دانشگاه تربیت مدرس، استفاده شد. زادمایه ویروس موزائیک خیار از عصاره بافت تازه گیاه خیار آلوده به ویروس و زادمایه ویروس موزائیک یونجه از عصاره گیاه توتون رقم سامسون آلوده به ویروس به نسبت ۵ گرم بافت گیاهی در ۱۰ میلی‌لیتر بافر فسفات (۰/۱ مولار، pH=۷/۴) تهیه و سپس به روش مکانیکی به گیاهچه‌های فلفل دلمه‌ای در مرحله دو تا سه برگ میوه‌زنی شد. به منظور تأیید آلودگی گیاهان میوه‌زنی شده، نسخه‌برداری معکوس و واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز و همچنین میوه‌زنی برگشتی روی گیاهان محک خیار، *Nicotiana clevelandii* و توتون رقم سامسون (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun) انجام شد.

استخراج آر ان ا و واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز معکوس

به منظور تأیید آلودگی گیاهان میوه‌زنی شده، آر ان ا کل با استفاده از کیت RNx-plus استخراج و از طریق نسخه‌برداری معکوس با استفاده از جفت آغازگرهای اختصاصی (AMV-F: 5'-CATTGATCGGTAATGGGCCGT-3' و 3' (AMV-R: 5'-ATCCACCCAGTGGAGGTCAGCA-3') قطع ۷۸۰ نوکلئوتیدی مربوط به ژن پروتئین پوششی ویروس موزائیک یونجه تکثیر شد (Massumi et al., 2012). همچنین با استفاده از جفت آغازگرهای اختصاصی ژن پروتئین پوششی ویروس موزائیک خیار (آغازگرهای CMVCPF: 5'-CGGATCCATGGACAAATCTGAATCAACC-3' و (CMVCPR: 5'-GGCGGCCGCTCAGACTGGGAGCACCCAG-3') قطع ۶۵۰ نوکلئوتیدی تکثیر شد (Asghari et al. 2020). نسخه‌برداری معکوس و واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز به ترتیب با استفاده از کیت‌های تجاری سیناکلون و Taq master mix (2x) شرکت Amplicon و طبق دستورالعمل آنها انجام شد. برنامه واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز برای هر دو ویروس شامل

گرم پتاسیم دیدید KI و ۰/۲۶۸ گرم پتاسیم یدات KIO₃ در ۲۰۰ میلی‌لیتر آب) آماده شدند. به محلول ید ۳۰ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک سه مولار اضافه و حجم آن در ۵۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. پس از آماده شدن محلول‌ها، درون یک ارلن ۱۲۵ میلی‌لیتری، ۲۵ میلی‌لیتر از محلول استاندارد ویتامین ث و ۱۰ قطره محلول نشاسته یک درصد ریخته شد. سپس درون یک بورت با مقدار کمی از محلول ید شستشو شد و بعد از با پر کردن آن با محلول ید، حجم اولیه آن یادداشت شد. به وسیله بورت، به ارلن حاوی محلول ویتامین ث و نشاسته، قطره قطره محلول ید اضافه شده تا رنگ محلول درون ارلن به آبی تغییر کند و حجم محلول ید استفاده شده یادداشت شد. این کار برای بدست آمدن استاندارد ویتامین ث حداقل سه مرتبه تکرار شد. سپس برای اندازه‌گیری محتوی ویتامین ث نمونه‌ها، درون ارلن به جای محلول استاندارد ویتامین ث، ۲۵ میلی‌لیتر از عصاره میوه فلفل و ده قطره محلول نشاسته ریخته و مراحل تیتراسیون ید تکرار شدند. برای اندازه‌گیری ویتامین ث، حجم محلول ید استفاده شده برای استاندارد بر حجم آسکوربیک‌اسید استفاده شده در محلول استاندارد تقسیم و حجم محلول ید استفاده شده برای هر نمونه بر عدد بدست آمده از استاندارد، تقسیم شد (Helmenstine, 2024).

ارزیابی میزان فنل کل

پنجاه میلی‌گرم از بافت برگ هر نمونه، در ۲ میلی‌لیتر متانول ۹۵ درصد سرد به وسیله هاون عصاره‌گیری و به تیوب منتقل شدند و به مدت ۴۸ ساعت در تاریکی و در دمای اتاق نگهداری شدند. نمونه‌ها در دمای اتاق به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (Eppendorf centrifuge 5424, Germany) شد و روئشین‌ها به تیوب‌های جدید منتقل شدند. محتوای فنل کل با استفاده از معرف فولین-سیوکالتیو اندازه‌گیری شد. به ۵۰ میکرولیتر از هر نمونه ۲۰۰ میکرولیتر فولین ۱۰ درصد اضافه و مخلوط شد. سپس ۸۰۰ میکرولیتر سدیم کربنات (۷۰۰ میلی‌مولار) به مخلوط به دست آمده اضافه و در دمای اتاق به مدت دو ساعت نگهداری شد. پس از آن جذب

مخلوط در طول موج ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (BioTek Epoch) مقابل بلانک خوانده شد. از گالیک‌اسید به عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد. میزان فنل کل بر اساس میلی‌گرم گالیک-اسید در گرم عصاره گزارش شد (Ainsworth & Gillespie, 2007; Maleki et al., 2021).

ترکیب تقریبی

در این روش درصد تقریبی کربوهیدرات، پروتئین، چربی، فیبر خام، خاکستر و رطوبت در بافت تعیین شد. ابتدا وزن تر میوه برای هر نمونه اندازه‌گیری شد. سپس به مدت ۲۴ ساعت درون آون در دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس قرارداده شدند و پس از خنک شدن، وزن خشک آنها اندازه‌گیری شد که درصد رطوبت، از اختلاف وزن تر و خشک تقسیم بر وزن تر بدست آمد.

برای اندازه‌گیری میزان پروتئین، از روش کج‌لدال استفاده شد که در آن ۰/۳ گرم از هر نمونه خشک پس از آسیاب شدن با یک گرم کاتالیزور مخلوط سلنیوم (Selenium reagent mixture) و هفت میلی‌لیتر اسیدسولفوریک ۹۸ درصد درون لوله‌های کج‌لدال ریخته و به مدت سه ساعت درون دستگاه هضم شرکت FOSS قرار گرفت. مراحل تقطیر و تیتراسیون لوله‌ها در دستگاه تقطیر انجام شد و دستگاه کج‌لدال اتوماتیک شرکت FOSS درصد نیتروژن هر نمونه را نشان داد. ضریب تبدیل درصد نیتروژن به درصد پروتئین در فلفل دلمه‌ای ۴/۴ است (Mariotti et al., 2008).

برای اندازه‌گیری میزان فیبر خام، یک گرم پودر هر نمونه درون کرسپیل دستگاه فیبرسنج شرکت FOSS قرار داده شد. نمونه‌ها درون دستگاه ابتدا در محلول سود ۱۲/۵ درصد (وزنی-حجمی) به مدت ۳۰ دقیقه جوشانده شدند و بعد با آب گرم شستشو و تخلیه انجام شد؛ سپس با محلول اسیدکلریدریک ۱۲/۵ درصد به مدت ۳۰ دقیقه جوشانده شدند تا مراحل هضم انجام گرفت. پس از شستشو و تخلیه، نمونه‌ها به مدت یک ساعت در آون در دمای ۱۳۰

میزان کربوهیدرات از اختلاف مجموع درصد پروتئین، درصد فیبر خام، چربی خام و خاکستر از ۱۰۰ درصد کل وزن خشک بدست آمد (Bakhtiar et al. 2024).

آنالیز خوشه‌بندی صفات در نقشه حرارتی

ارزیابی و خوشه‌بندی صفات در تیمارهای مورد آزمایش براساس صفات مورد مطالعه انجام شد. نقشه حرارتی با استفاده از سایت CIMMiner رسم شد.

طرح آزمایشی

این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۵ تکرار برای هر ویروس اجرا شد، ولی تعدادی از صفات در سه تکرار به‌طور تصادفی اندازه‌گیری شد. همچنین آزمایش دو بار تکرار شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از مدل خطی عمومی، به کمک نرم‌افزار Minitab صورت گرفت.

نتایج

گیاهان فلفل دلمه‌ای مایه‌زنی شده با ویروس موزائیک خیار پس از ده روز علائم زردی و موزائیک خفیف را نشان دادند. پس از ۱۴ روز از مایه‌زنی، علائم شدت گرفت و به صورت موزائیک، نکروز، بدشکلی و کاهش سطح برگ‌ها و کوتولگی دیده شد. در ادامه علائم پیسک، باریک شدن نوک برگ و کم شدن فاصله میان گره‌ها به علائم اولیه اضافه شد. بوته‌ها در مرحله باردهی (۹۰ روز پس از مایه‌زنی) نیز علائم موزائیک، کوتولگی و زردی داشتند و میوه بوته‌های آلوده به ویروس موزائیک خیار نسبت به میوه گیاه سالم کوچک‌تر و بدشکل بود و دیرتر تشکیل شدند (شکل ۱).

علائم ویروس موزائیک یونجه پس از گذشت ۱۴ روز از مایه‌زنی بروز کرد و شامل زردی، رگبرگ روشنی، کاهش سطح برگ، موزائیک خفیف و کوتولگی بود. در مرحله باردهی که حدود سه ماه پس از مایه‌زنی اتفاق افتاد، علائم کوتولگی و گلدهی کمتر در گیاهان آلوده به ویروس موزائیک یونجه

درجه سلسیوس قرار داده‌شدند. کرسپیل‌ها درون دسیکاتور قرار داده شدند و بعد از خنک شدن وزن آنها اندازه‌گیری شد. در نهایت، نمونه‌ها درون کوره با دمای ۵۵۰ درجه سلسیوس و به مدت چهار ساعت نگهداری شدند. پس از انجام این مراحل وزن نمونه‌ها اندازه‌گیری شد و طبق دستورالعمل شرکت سازنده دستگاه (AOAC 978.10) از طریق فرمول زیر درصد فیبر خام بدست آمد:

$$\text{وزن نمونه بعد از کوره} - \text{وزن نمونه بعد از آون} \\ \text{وزن خشک نمونه} \times 100 = \text{درصد فیبر خام}$$

برای اندازه‌گیری چربی خام (عصاره اتری)، دو گرم پودر نمونه خشک شده درون قیف صافی که از قبل وزن شده بود، ریخته شد و صافی با تا زدن کاملاً بسته شد. سپس نمونه‌ها در دستگاه اکستراکتور قرار داده‌شد و دو سوم بالن سوکسله با حلال پترولیوم اتر پر شد. نمونه‌ها به مدت شش ساعت جوشانده شدند و سپس در دمای محیط نگهداری شدند تا حلال تبخیر شود و پس از آن به مدت یک ساعت در آون در دمای ۷۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند و پس از آن درصد چربی از فرمول

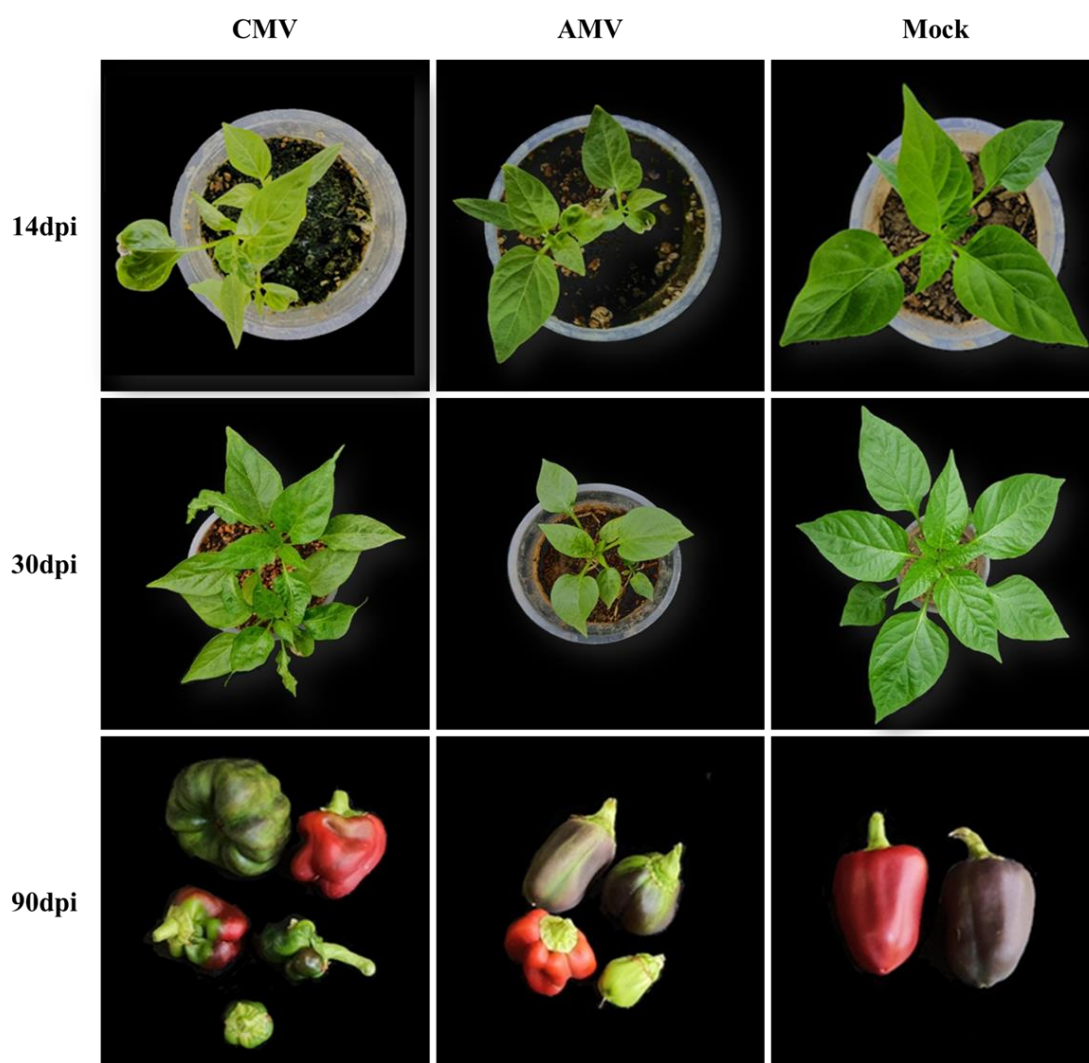
$$\frac{\text{وزن نمونه بعد از آون} - \text{وزن نمونه اولیه}}{\text{وزن نمونه اولیه}} \times 100 = \text{درصد چربی خام}$$

بدست آمد (Thiex et al. 2019).

برای اندازه‌گیری میزان خاکستر، ابتدا بوته‌های چینی به مدت ۱۵ دقیقه درون آون در دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس قرار داده‌شدند. سپس بوته‌ها درون دسیکاتور خنک شدند و پس از آن، وزن آنها اندازه‌گیری شد. بوته‌ها شماره‌گذاری شده و نمونه‌ها درون آن‌ها ریخته شد. سپس بوته‌های چینی حاوی نمونه در کوره با دمای ۵۵۰ درجه سلسیوس به مدت پنج ساعت قرار داده‌شد و بعد از آن درون دسیکاتور خنک شد. دوباره وزن خاکستر باقی مانده درون بوته چینی اندازه‌گیری شد. درصد خاکستر از نسبت وزن خاکستر به وزن نمونه اولیه ضربدر ۱۰۰ بدست آمد.

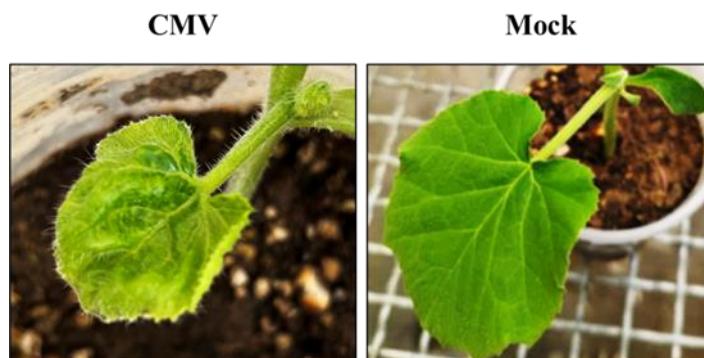
همچنین ویروس موزائیک یونجه در برگ‌های بالایی گیاهان مایه‌زنی شده فلفل دلمه‌ای با استفاده از نسخه‌برداری معکوس و تکثیر واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز ردیابی و قطعه دی‌ان‌ای مورد انتظار از گیاه مایه‌زنی شده با ویروس تکثیر شد (شکل ۴). در گیاهان فلفل دلمه‌ای مایه‌زنی شده با ویروس موزائیک خیار نیز نتیجه مشابهی بدست آمد (نتیجه نشان داده نشده است).

دیده شد و میوه‌های آلوده اندازه کوچک‌تری نسبت به میوه‌های شاهد داشتند (شکل ۱). در تلقیح برگشتی، علائم مشاهده شده روی خیار آلودگی گیاهان فلفل دلمه‌ای به ویروس موزائیک خیار را تایید کرد (شکل ۲). علایم مشاهده شده روی گیاهان *N. clevelandii* و توتون رقم سامسون (*N. tabacum* cv. Samsun) آلودگی گیاهان فلفل دلمه‌ای به ویروس موزائیک یونجه را تایید کرد (شکل ۳).



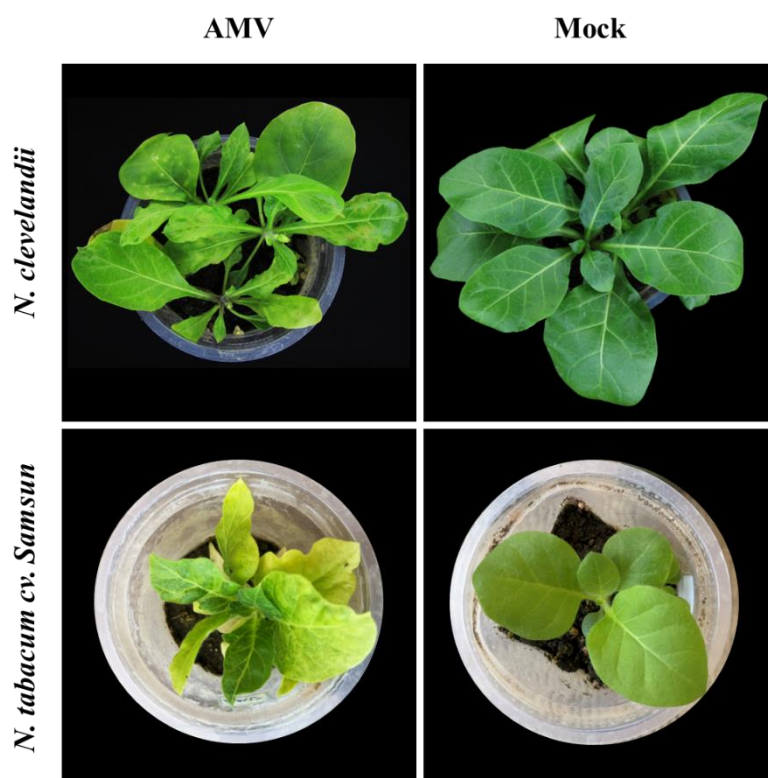
شکل ۱. علائم مشاهده شده در گیاهان فلفل دلمه‌ای مایه‌زنی شده با ویروس موزائیک خیار (CMV) و ویروس موزائیک یونجه (AMV) ۱۴، ۳۰ و ۹۰ روز پس از مایه‌زنی مکانیکی (dpi) در مقایسه با شاهد (Mock).

Fig. 1. Symptoms observed in bell pepper plants inoculated with cucumber mosaic virus (CMV) and alfalfa mosaic virus (AMV) 14-, 30- and 90-days post-inoculation (dpi) in comparison with control plants (Mock).



شکل ۲. علائم مشاهده شده روی گیاه خیار پس از مایه‌زنی برگشتی با عصاره گیاه فلفل مایه زنی شده با ویروس موزائیک خیار.

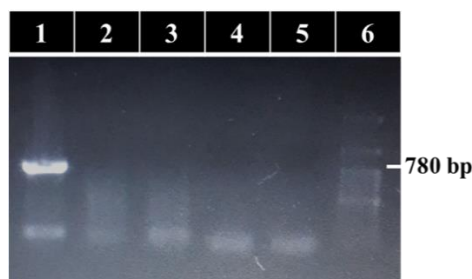
Fig 2. Symptoms observed after back-inoculation of the extract of bell pepper plants inoculated with cucumber mosaic virus on cucumber plants.



شکل ۳. علائم مشاهده شده پس از مایه‌زنی برگشتی با عصاره فلفل مایه زنی شده با ویروس موزائیک یونجه روی گیاهان *Nicotiana*

clelandii و توتون رقم سامسون (*N. tabacum* cv. Samsun).

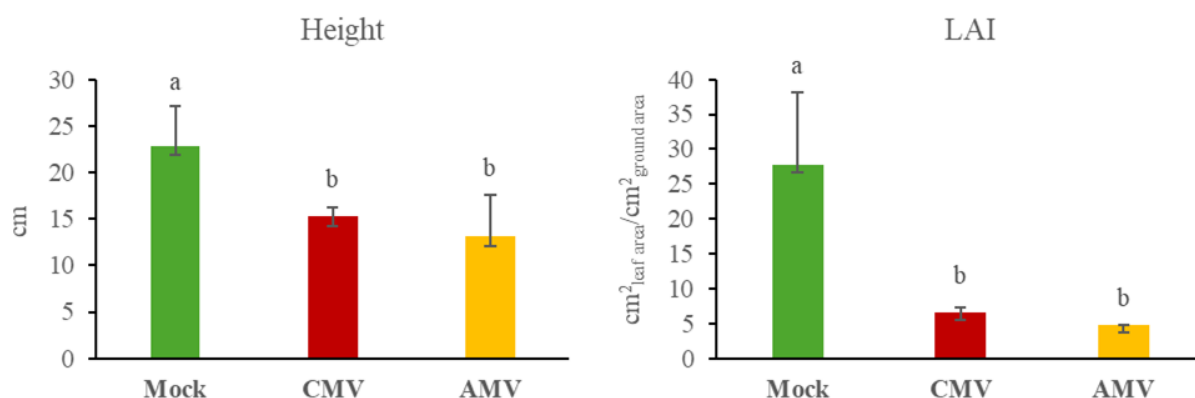
Fig 3. Symptoms observed after back-inoculation of the extract of bell pepper plants inoculated with alfalfa mosaic virus on *Nicotiana clelandii* and *N. tabacum* cv. Samsun plants



شکل ۴. نتایج الکتروفورز کردن قطعه تکثیر شده ۷۸۰ نوکلئوتیدی مربوط به ژن پروتئین پوششی ویروس موزائیک یونجه با استفاده از آغازگرهای AMV-F و AMV-R. واکنش زنجیره‌ای پلی مرارز رونویسی معکوس آر ان ای استخراج شده از گیاه مایه‌زنی شده با راهک ۱: ویروس موزائیک یونجه، راهک ۲: ویروس موزائیک خیار و راهک ۳: بافر فسفات (شاهد منفی). راهک ۴: کنترل منفی RT، راهک ۵: کنترل منفی PCR. راهک ۶: نشانگر اندازه DNA (100 bp plus ladder marker CinnaGen, Iran).

Fig 4. Results of electrophoresis of the amplified 780 nucleotide fragment of the coat protein gene of alfalfa mosaic virus using primers AMV-F and AMV-R. RT-PCR of total RNA extract of plant inoculated with lane 1: alfalfa mosaic virus, Lane 4: RT negative control, Lane 5: PCR .lane 2: cucumber mosaic virus and lane 3: phosphate buffer (negative control). Lane 6: DNA size marker (100 bp plus ladder marker CinnaGen, Iran).

با توجه به داده‌های بدست آمده و تجزیه واریانس آن‌ها، اختلاف ارتفاع و شاخص سطح برگ گیاهان آلوده به ویروس موزائیک خیار و ویروس موزائیک یونجه با گیاهان مایه‌زنی شده با ویروس موزائیک خیار و ویروس موزائیک یونجه به ترتیب ۳۳/۴ درصد و ۴۲/۶ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش ارتفاع را نشان دادند (شکل ۵).

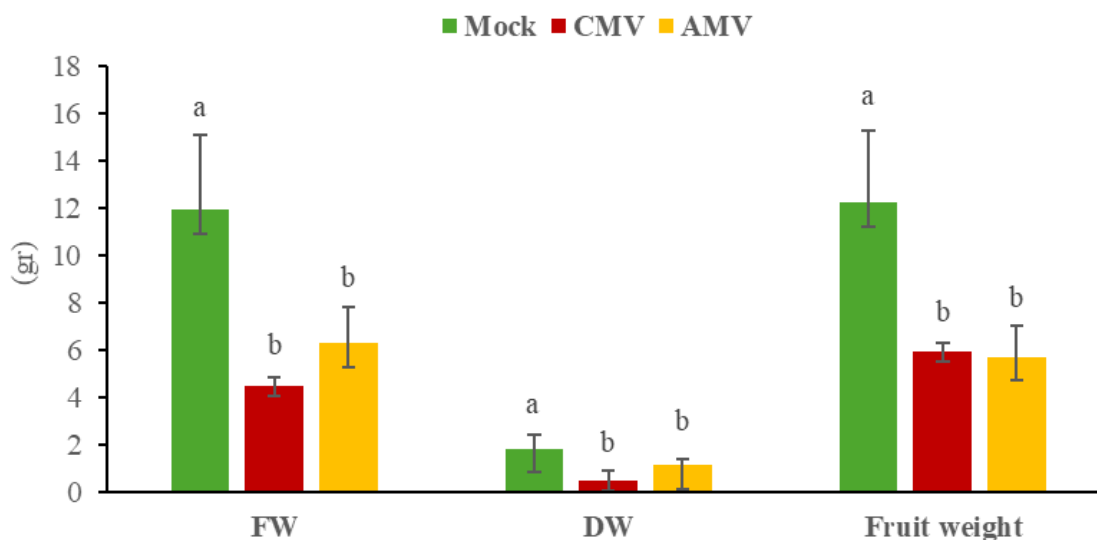


شکل ۵. مقایسه میانگین ارتفاع و شاخص سطح برگ گیاهان فلفل دلمه‌ای مایه‌زنی شده با ویروس موزائیک خیار، ویروس موزائیک یونجه و گیاهان شاهد. تیمارهای با حروف یکسان تفاوت معنی‌دار آماری ندارند.

Fig. 5. Comparison of the means of height and leaf area indices (LAI) of bell pepper plants inoculated cucumber mosaic virus, alfalfa mosaic virus with those of control plants (Mock). Treatments with the same letters are statistically not significant different.

میانگین وزن تر و وزن خشک بوته‌ها در گیاهان مایه‌زنی شده با ویروس‌ها نسبت به گیاهان شاهد کاهش معنی‌دار در سطح پنج درصد نشان داد. گیاهان مایه‌زنی شده با ویروس موزائیک خیار و ویروس موزائیک یونجه به ترتیب باعث کاهش ۶۲/۷۵ و ۴۷/۴۰ درصد وزن تر بوته‌ها و ۷۴/۷۳ و ۳۹/۵۶ درصد معنی‌داری در سطح یک درصد نشان داد (شکل ۶).

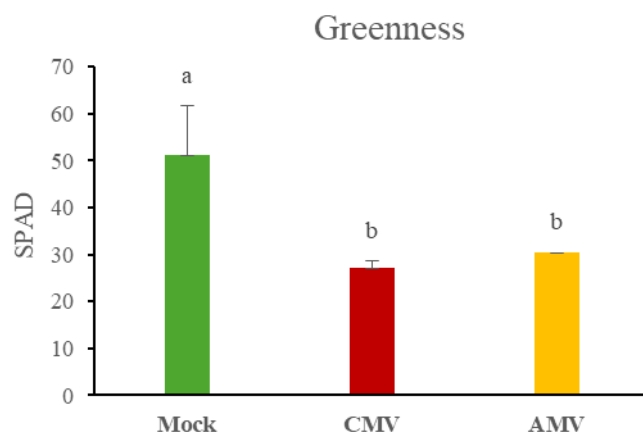
وزن خشک بوته‌ها نسبت به وزن تر و خشک گیاهان شاهد شدند. علاوه بر این، داده‌های بدست آمده از وزن تر میوه در گیاهان آلوده به ویروس موزائیک خیار و آلوده به ویروس موزائیک یونجه نسبت به وزن تر گیاهان شاهد، کاهش معنی‌داری در سطح یک درصد نشان داد (شکل ۶).



شکل ۶. مقایسه میانگین وزن تر، وزن خشک بوته‌ها و وزن تر میوه‌های گیاهان فلفل دلمه‌ای مایه‌زنی شده با ویروس موزائیک خیار، ویروس موزائیک یونجه و گیاهان شاهد. تیمارهای با حروف یکسان تفاوت معنی‌دار آماری ندارند.

Fig. 6. Comparison of the mean of fresh weight (FW), dry weight (DW), and fresh fruit weight of bell pepper plants inoculated with cucumber mosaic virus, alfalfa mosaic virus with those of control plants (Mock). Treatments sharing the same letters indicate no statistically significant difference.

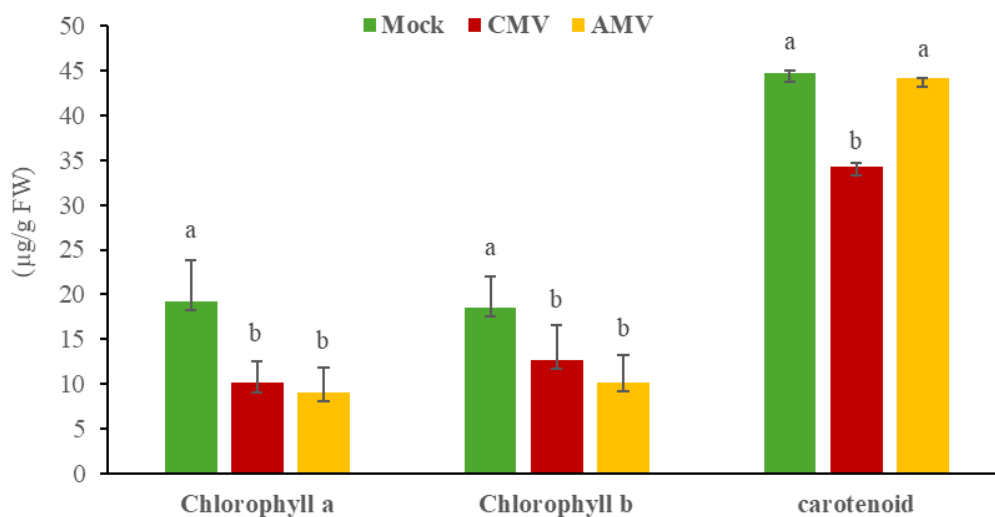
میزان سبزی‌نگی در گیاهان آلوده به ویروس موزائیک خیار و گیاهان آلوده به ویروس موزائیک یونجه نسبت به گیاهان شاهد، کاهش معنی‌داری در سطح یک درصد نشان داد (شکل ۷).



شکل ۷. مقایسه میانگین سبزیگی گیاهان فلفل دلمه‌ای مایه‌زنی شده با ویروس موزائیک خیار، ویروس موزائیک یونجه و گیاه شاهد. تیمارهای با حروف یکسان تفاوت معنی‌دار آماری ندارند.

Fig. 7. Comparison of the mean of greenness of bell pepper plants inoculated with cucumber mosaic virus, alfalfa mosaic virus, and control plants (Mock). Treatments sharing the same letters indicate no statistically significant difference.

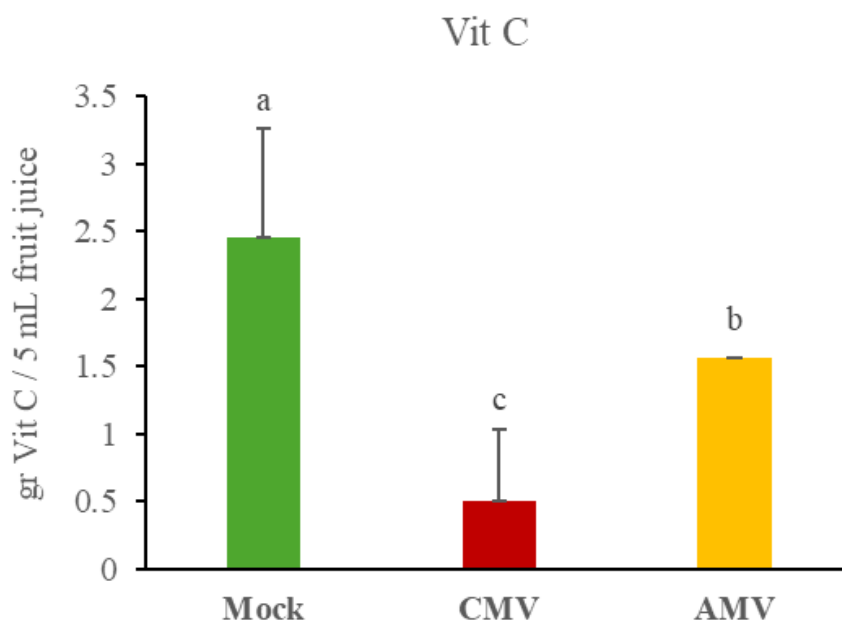
میزان کلروفیل a، b و کارتنوئید در تیمارهای آلوده به ویروس موزائیک به ویروس موزائیک یونجه نسبت به شاهد کاهشی نبوده و با تیمار شاهد در خیار و آلوده به ویروس موزائیک یونجه در سطح یک درصد کاهش معنی- یک گروه آماری قرار گرفتند. داری نسبت به تیمار شاهد داشت (شکل ۸). میزان کارتنوئید در گیاهان آلوده



شکل ۸. مقایسه میانگین کلروفیل a، b و کارتنوئید در گیاهان فلفل دلمه‌ای مایه‌زنی شده با ویروس موزائیک خیار، ویروس موزائیک یونجه و گیاه شاهد. تیمارهای با حروف یکسان تفاوت معنی‌دار آماری ندارند.

Figure 8. Comparison of the mean of chlorophyll a, chlorophyll b, and carotenoids in bell pepper plants inoculated with cucumber mosaic virus, alfalfa mosaic virus, and control plants (Mock). Treatments sharing the same letters are not statistically significantly different.

در گیاهان مایه‌زنی شده با ویروس موزائیک خیار و گیاهان مایه‌زنی شده با ویروس موزائیک یونجه میزان فنل کل در برگ و میوه‌ها تغییر معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نداشتند. اثر تیمارهای ویروسی بر میزان ویتامین ث کاهشی بوده (در سطح یک درصد) و بیشترین کاهش با ۷۹/۸ درصد در گیاهان مایه‌زنی شده با ویروس موزائیک خیار مشاهده شد (شکل ۹).

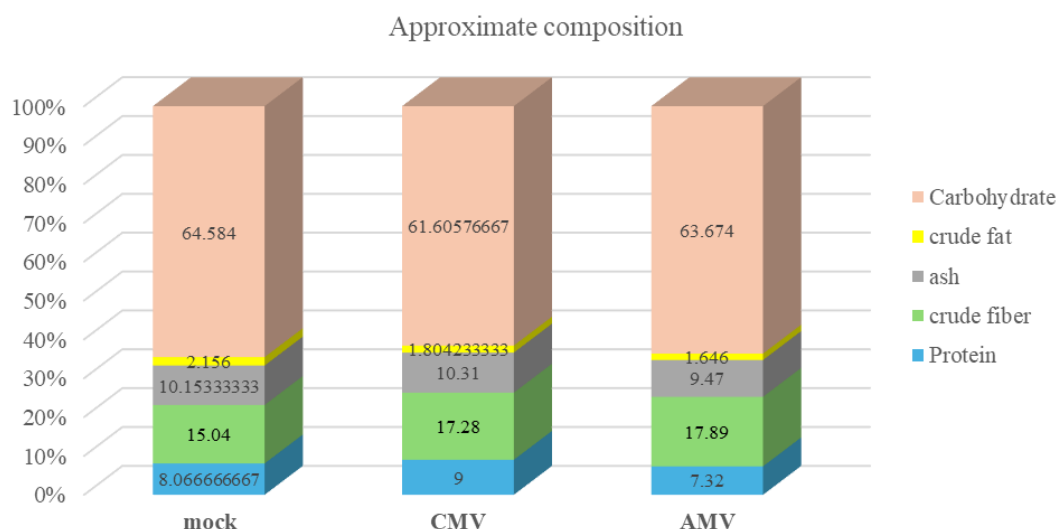


شکل ۹. مقایسه میانگین میزان ویتامین ث در گیاهان فلفل دلمه‌ای مایه‌زنی شده با ویروس موزائیک خیار، ویروس موزائیک یونجه و گیاه شاهد. تیمارهای با حروف یکسان تفاوت معنی‌دار آماری ندارند.

Fig. 9. Comparison of the mean of vitamin C content in bell pepper plants inoculated with cucumber mosaic virus, alfalfa mosaic virus, and control plants (Mock). Treatments sharing the same letters are not different, significantly.

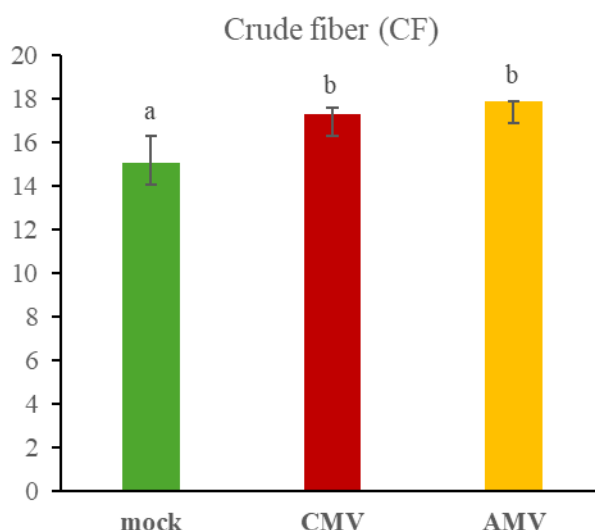
به طور کلی ترکیب فلفل دلمه‌ای شامل رطوبت، پروتئین، فیبر، چربی، خاکستر یا مواد معدنی و کربوهیدرات است. میانگین درصد رطوبت در گیاهان آلوده به ویروس موزائیک خیار ۹۲/۱۷ درصد، در گیاهان آلوده به ویروس موزائیک یونجه ۹۲/۱۳ درصد و در گیاهان تیمار شاهد ۹۱/۵ درصد بود که طبق تجزیه واریانس، اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. درصد پروتئین، خاکستر (مواد معدنی)، چربی و کربوهیدرات در گیاهان مایه‌زنی شده با ویروس موزائیک خیار و ویروس موزائیک یونجه تغییر معنی‌داری نسبت به گیاهان تیمار شاهد نداشت (شکل ۱۰).

درصد فیبر خام افزایش معنی‌داری در تیمارهای آلوده به ویروس موزائیک خیار و آلوده به ویروس موزائیک یونجه نسبت به تیمار شاهد داشت (شکل ۱۱).



شکل ۱۰. مقایسه ترکیب تقریبی گیاهان فلفل دلمه‌ای مایه‌زنی شده با ویروس موزائیک خیار، ویروس موزائیک یونجه و گیاه شاهد.

Fig. 10. Comparison of the approximate composition of bell pepper plants inoculated with cucumber mosaic virus, alfalfa mosaic virus, and control plants (Mock).



شکل ۱۱. مقایسه میانگین درصد فیبر خام در گیاهان فلفل دلمه‌ای مایه‌زنی شده با ویروس موزائیک خیار، ویروس موزائیک یونجه و گیاه شاهد.

تیمارهای با حروف یکسان تفاوت معنی‌دار آماری ندارند.

Fig. 11. Comparison of the mean of crude fiber percentages in bell pepper plants inoculated with cucumber mosaic virus, alfalfa mosaic virus with those of control plants (Mock). Treatments sharing the same letters are not statistically significantly different.

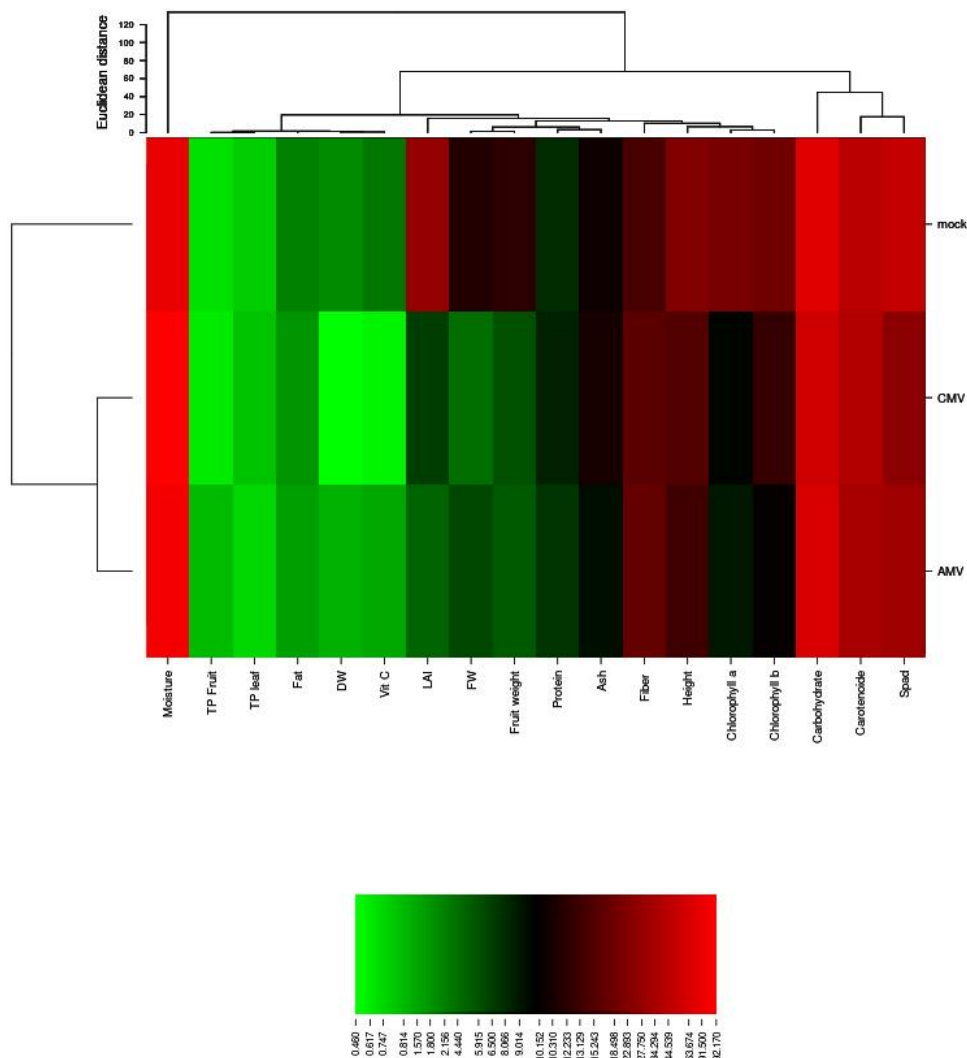
گرفت و میزان هر صفت از رنگ سردتر (سبز روشن) تا رنگ گرم‌تر (قرمز)،

از کم به زیاد تغییر کرد. صفت درصد رطوبت در یک خوشه و صفات میزان

آنالیز نقشه حرارتی صفات به منظور ارزیابی و خوشه‌بندی صفات مورد

مطالعه در تیمارهای مورد آزمایش نشان داد که صفات در سه خوشه قرار

سبزی‌نگی، کاروتنوئید و درصد کربوهیدرات در خوشه دیگری قرار گرفتند. میزان ویتامین ث، وزن خشک، درصد چربی، میزان فنل کل در برگ و میزان فنل کل در میوه نیز در خوشه جداگانه‌ای قرار گرفتند (شکل ۱۲).
باقی صفات همچون کلروفیل a، b، ارتفاع بوته، درصد فیبر خام، درصد خاکستر، درصد پروتئین، وزن تر میوه، وزن تر بوته، شاخص سطح برگ،



شکل ۱۲. آنالیز خوشه‌بندی صفات مورد ارزیابی در گیاهان فلفل آلوده به ویروس موزائیک خیار (CMV)، ویروس موزائیک یونجه (AMV) و شاهد.

در این نقشه حرارتی تیمارها در محور عمودی و صفات در محور افقی قرار دارند. SPAD: میزان سبزی‌نگی، FW: وزن تر، DW: وزن خشک، LAI:

شاخص سطح برگ، TP: فنل کل.

Fig 12. Cluster analysis of the evaluated traits in bell pepper plants inoculated with cucumber mosaic virus (CMV), alfalfa mosaic virus and control plants (mock). In this heatmap, the treatments and the studied traits are shown on vertical horizontal axis, respectively SPAD: Chlorophyll content, FW: Fresh weight, DW: Dry weight, LAI: Leaf area index, TP: Total phenols.

بحث

علائم گیاهان فلفل دلمه‌ای به ویروس موزائیک خیار و ویروس موزائیک یونجه ۱۰ تا ۱۴ روز پس از مایه‌زنی مشاهده شدند. یافته‌های ما نشان داد که گیاهان آلوده به هر کدام از این دو ویروس، کاهش ارتفاع معنی‌داری نسبت به گیاهان شاهد داشتند. این نتیجه با مطالعه (Pazarlar et al., 2013) که اثر ویروس موزائیک توتون بر فلفل دلمه‌ای را بررسی کردند، همخوانی دارد (Pazarlar et al., 2013). آنها نیز گزارش کردند که ویروس موزائیک توتون باعث کاهش ارتفاع گیاهان فلفل دلمه‌ای می‌شود، که نشان‌دهنده تأثیر منفی کلی آلودگی ویروسی بر رشد گیاه آلوده است.

شاخص سطح برگ (LAI) در گیاهان آلوده به ویروس موزائیک خیار و ویروس موزائیک یونجه به طور معنی‌داری کاهش یافت. این کاهش LAI با نتایج (Kim et al., 2010) در مورد اثر ویروس موزائیک خیار بر سطح برگ همخوانی دارد. کاهش سطح برگ می‌تواند به کاهش دریافت نور و در نتیجه کاهش فتوسنتز منجر شود. (Kim et al., 2010)

به طور مشابه، وزن تر و خشک بوته در گیاهان فلفل دلمه‌ای آلوده به ویروس موزائیک خیار و ویروس موزائیک یونجه به طور معنی‌داری کمتر از گیاهان شاهد بود. این یافته‌ها با نتایج پژوهش‌های پیشین در مورد اثر ویروس موزائیک توتون (Pazarlar et al., 2013) و ویروس موزائیک یونجه (Hosseini et al., 2021) بر وزن بوته فلفل دلمه‌ای سازگار است. کاهش وزن بوته نشان‌دهنده کاهش کلی در توده زیستی گیاه و توانایی آن در تبدیل انرژی است. (Hosseini et al., 2021; Pazarlar et al., 2013)

وزن میوه نیز در گیاهان آلوده به هر دو ویروس کاهش قابل توجهی داشت. این نتیجه با مطالعه (Pazarlar et al., 2013) در مورد اثر ویروس موزائیک توتون بر اندازه میوه فلفل دلمه‌ای همخوانی دارد (Pazarlar et al., 2013). کاهش وزن میوه پیامد مستقیم کاهش فتوسنتز و تخصیص منابع به سمت رشد رویشی به جای زایشی است.

به طور خلاصه، آلودگی به ویروس موزائیک خیار و ویروس موزائیک یونجه با کاهش ارتفاع، سطح برگ، وزن تر و خشک بوته، و وزن تر میوه، رشد و عملکرد گیاه فلفل دلمه‌ای را به طور قابل توجهی تحت تأثیر قرار می‌دهد. کاهش سطح برگ، به عنوان عضو اصلی فتوسنتز کننده، منجر به کاهش فتوسنتز و در نتیجه کاهش انرژی تولیدی گیاه و کاهش عملکرد آن می‌شود (Pazarlar et al., 2013).

میزان سبزی‌نگی یا کلروفیل کل در گیاهان آلوده به ویروس موزائیک خیار و ویروس موزائیک یونجه به طور معنی‌داری کاهش یافت. این کاهش با یافته‌های (Rahman et al., 2019) در مورد اثر ویروس موزائیک خیار بر کلروفیل فلفل قرمز و (Shakeel et al., 2016) در مورد اثر ویروس موزائیک خیار بر کلروفیل خیار مطابقت دارد (Rahman et al., 2019; Shakeel et al., 2016). کاهش کلروفیل‌ها، که در فتوسنتز نقش دارند، می‌تواند منجر به کاهش ارزش غذایی فلفل دلمه‌ای آلوده به ویروس شود، زیرا کلروفیل‌ها در رژیم غذایی انسان به عنوان آنتی‌اکسیدان عمل کرده و خواص ضد التهابی دارند (Martins et al., 2023).

میزان کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها نیز در گیاهان آلوده به ویروس موزائیک خیار و ویروس موزائیک یونجه به طور معنی‌داری کاهش یافت. این یافته‌ها با مطالعات (Pazarlar et al., 2013) و (Rahman et al., 2019) در مورد اثر این دو ویروس بر کلروفیل a و b همخوانی دارد (Pazarlar et al., 2013; Rahman et al., 2019). در پژوهش دیگری که اثر سندرم پژمردگی ناگهانی بر فلفل قرمز مورد بررسی قرار گرفته است نیز کاهش کلروفیل a و b در گیاهان دارای علائم بیماری مشاهده شد (Salaria et al., 2023). همچنین (Prakash et al., 1995) گزارش کردند که آلودگی به ویروس موزائیک خیار باعث کاهش کاروتنوئیدها در چند گونه تاج خروس و سلمه‌تره می‌شود (Prakash et al., 1995).

حساسیت گیاه ذرت به ویروس می‌شود (Hao et al., 2023). بنابراین، پیشنهاد می‌شود مسیرهای سنتز ویتامین ث در آلودگی‌های ویروسی مورد بررسی قرار گیرند و میزان ویتامین ث نیز در مراحل مختلف آلودگی اندازه‌گیری شود.

بر اساس نتایج این پژوهش، درصد رطوبت، پروتئین، چربی خام، کربوهیدرات و خاکستر در گیاهان آلوده به ویروس موزائیک خیار و ویروس موزائیک یونجه نسبت به گیاهان شاهد تغییر معنی‌داری نداشت. با این حال، درصد فیبر خام در تیمارهای آلوده به ویروس افزایش معنی‌داری نشان داد. مطالعه Hosseini et al. (2021) نیز نشان داد که ویروس موزائیک یونجه تغییر معنی‌داری در میزان کربوهیدرات کل گیاه فلفل دلمه‌ای ایجاد نمی‌کند (Hosseini et al., 2021). مطالعات دیگر نیز نشان داده‌اند که اثر ویروس‌ها و تنش‌ها بر ترکیب تقریبی گیاهان متفاوت است و می‌تواند به نوع ویروس، رقم گیاه، و شرایط محیطی بستگی داشته باشد (Azam et al., 2017; Nitiema & Sombié, 2019; Shakeel et al., 2016).

تفاوت در تغییر میزان قند و پروتئین در مطالعات مختلف می‌تواند ناشی از اختلاف در نوع تنش و بیمارگر، رقم گیاه میزبان و مرحله رشدی اندازه‌گیری صفات باشد. به منظور بررسی بیشتر دلیل قطعی آن، توصیه می‌شود در آینده، ترکیب تقریبی ارقام مختلف فلفل دلمه‌ای و همچنین سایر محصولات کشاورزی میزبان این دو ویروس مورد بررسی قرار گیرد. همچنین، به منظور بررسی گسترده‌تر اثر ویروس‌ها بر فلفل دلمه‌ای، انجام HPLC به منظور تجزیه دقیق ترکیبات مختلف مانند کپسیسینوئیدها، اسیدهای آلی، ترکیبات فنلی و قندها در پژوهش‌های آتی پیشنهاد می‌شود.

نقشه حرارتی نشان داد که صفات مورد بررسی در سه خوشه اصلی قرار می‌گیرند. این خوشه‌بندی نشان می‌داد که صفات مختلف به طور متفاوتی تحت تأثیر آلودگی ویروسی قرار گرفت و ارتباطات پیچیده‌ای بین آنها وجود دارد. خوشه اول شامل صفت درصد رطوبت، خوشه دوم شامل صفات میزان

تفاوت معنی‌داری در میزان فنل کل بین تیمارهای ویروسی و شاهد مشاهده نشد. این در حالی است که مطالعات دیگر کاهش میزان فنل کل را در گیاهان آلوده به ویروس یا تحت تنش گزارش کرده‌اند (Khazaei & Estaji, 2020; Salaria et al., 2023; Shakeel et al., 2016). این تفاوت می‌تواند ناشی از طولانی‌تر بودن دوره رشد و رسیدن به سن میوه‌دهی و بلوغ میوه‌ها در این پژوهش باشد. محتوی فنل گیاهان بسیار پویا بوده و با زمان، رشد گیاه و مراحل مختلف آلودگی تغییر می‌کند (Baker et al., 2010). مطالعه Saadati et al. (2022) نیز نشان داد که میزان فنل کل در گیاهان ریحان و گشنیز آلوده به ویروس موزائیک خیار و ویروس موزائیک یونجه در مرحله رویشی نسبت به شاهد کاهشی و در مرحله ۵۰ درصد گلدهی افزایشی بوده است (Saadati et al., 2022).

میزان ویتامین ث در گیاهان آلوده به ویروس موزائیک خیار و ویروس موزائیک یونجه نسبت به گیاهان شاهد کاهش معنی‌داری داشت. گیاهان آلوده به ویروس موزائیک خیار نسبت به گیاهان آلوده به ویروس موزائیک یونجه میزان کمتری ویتامین ث داشتند، که نشان‌دهنده تأثیر نوع ویروس بر میزان ویتامین ث است. در پژوهش‌های دیگر نیز، در مورد اثر ویروس موزائیک خیار بر چند گونه تاج خروس و سلمه‌تره و همچنین در تنش ناشی از ازدیاد دی‌اکسید کربن در اتمسفر کشت فلفل دلمه‌ای و سندرم مرگ ناگهانی فلفل نیز کاهش میزان ویتامین ث گزارش شده است (Azam et al., 2017; Prakash et al., 1995; Salaria et al., 2023) که با یافته‌های این مطالعه همخوانی دارد.

تغییر در میزان ویتامین ث ممکن است ناشی از تفاوت در زمان و مرحله اندازه‌گیری باشد. تغییرات مسیرهای بیوسنتز ویتامین ث اعمال شده توسط ویروس‌ها به طور دقیق مورد مطالعه قرار نگرفته است، اما مشخص شده است که آلودگی ویروسی میزان ویتامین ث در گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Zarrillo et al., 2017). خاموشی ژن بیوسنتز کننده ویتامین ث باعث

سبزی‌نگی، کاروتنوئید و درصد کربوهیدرات است. در این خوشه، اثر کاهشی ویروس موزائیک خیار بر میزان سبزی‌نگی بیشتر از ویروس موزائیک یونجه بود. خوشه سوم شامل باقی صفات از جمله کلروفیل a و b، ارتفاع بوته، درصد فیبر خام، درصد خاکستر، درصد پروتئین، وزن میوه، وزن تر، شاخص سطح برگ، میزان ویتامین ث، وزن خشک، درصد چربی، میزان فنل کل در برگ و میزان فنل کل در میوه است. در این خوشه، اثر کاهشی ویروس موزائیک خیار بر کلروفیل a و ارتفاع بوته بیشتر از ویروس موزائیک یونجه بود، در حالی که اثر کاهشی ویروس موزائیک یونجه بر کلروفیل b بیشتر بود. همچنین، اثر کاهشی ویروس موزائیک خیار بر ویتامین ث و وزن خشک بیشتر از ویروس موزائیک یونجه بود. به طور کلی، نقشه حرارتی نشان داد که ویروس موزائیک خیار تأثیر بیشتری بر برخی صفات مانند میزان سبزی‌نگی، کلروفیل a، ارتفاع بوته، ویتامین ث و وزن خشک داشت، در حالی که ویروس موزائیک یونجه تأثیر بیشتری بر برخی صفات دیگر مانند کلروفیل b داشت. این تفاوت‌ها می‌تواند ناشی از مکانیسم‌های عمل متفاوت این دو ویروس باشد.

تعارض منافع

در انجام مطالعه حاضر، هیچ‌گونه تضاد منافی وجود ندارد.

موازین اخلاقی

در انجام این پژوهش تمامی موازین و اصول اخلاقی رعایت گردیده است.

سپاسگزاری

از تمامی کسانی که در طی مراحل این پژوهش یاری رساندند تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

- Ainsworth, E. A., & Gillespie, K. M. (2007). Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent. *Nature Protocols*, 2, 875-877. [Link]
- Anaya-Esparza, L. M., Mora, Z. V., Vázquez-Paulino, O., Ascencio, F., & Villarruel-López, A. (2021). Bell peppers (*Capsicum annum* L.) losses and wastes: source for food and pharmaceutical applications. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26, 5341. [Link]
- Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta Vulgaris*. *Plant Physiology*, 24, 1-15. [Link]
- Ayazpour, K. (2014). *Alphabetic list of plant viruses and viroids reported from Iran*. Jahrom: Publication of Jahrom Branch, Islamic Azad University. [Link]
- Azam, A., Hamee, A., & Khan, I. (2017). Impact of elevated atmospheric carbon dioxide on yield, vitamin c, proximate, fatty acid and amino acid composition of capsicum (*Capsicum annum*). *Environmental Pollution and Protection*, 2, 153-167. [Link]
- Baker, C. J., Owens, R. A., Whitaker, B. D., Mock, N. M., Roberts, D. P., Deahl, K. L., & Aver'yanov, A. A. (2010). Effect of viroid infection on the dynamics of phenolic metabolites in the apoplast of tomato leaves. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 74, 214-220. [Link]
- Bakhtiar, Z., Hassandokht, M., Naghavi, M. R., & Mirjalili, M. H. (2024). Variability in proximate composition, phytochemical traits and antioxidant properties of Iranian agro-ecotypic populations of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). *Scientific Reports*, 14, 87. [Link]
- Hao, K., Yang, M., Cui, Y., Jiao, Z., Gao, X., Du, Z., Wang, Z., An, M., Xia, Z., & Wu, Y. (2023). Transcriptomic and functional analyses reveal the different roles of vitamins C, E, and K in regulating viral infections in maize. *International Journal of Molecular Sciences*, 24, 8012. [Link]
- Helmenstine, A. M. (2024). *Vitamin C determination by iodine titration*.
- Hosseini, S. A., Ghaemi, M., & Khayyat, M. (2021). Responses of pepper to Alfalfa mosaic virus and manganese nutrition under greenhouse conditions: preliminary results. *Journal of Horticulture and Postharvest Research*, 4, 67-80. [Link]
- Khazaei, Z., & Estaji, A. (2020). Impact of exogenous applications of salicylic acid on the tolerance to drought stress in pepper (*Capsicum annum* L.) plants. *Research Square*, 6, 1-17. [Link]
- Kim, M., Kim, M., Hong, J. S., Choi, J., & Ryu, K. (2010). Patterns in disease progress and the influence of single and multiple viral infections on pepper (*Capsicum annum* L.) growth. *European Journal of Plant Pathology*, 127, 53-61. [Link]

- Maleki, M., Shojaeiyan, A., & Mokhtassi-Bidgoli, A. (2021). Genotypic variation in biochemical and physiological responses of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) landraces to prolonged drought stress and subsequent rewatering. *Scientia Horticulturae*, 287, 110224. [Link]
- Mariotti, F., Tomé, D., & Patureau, P. (2008). Converting nitrogen into protein-beyond 6.25 and Jones' factors. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48, 177-184. [Link]
- Martins, T., Barros, A. N., Rosa, E., & Antunes, L. (2023). Enhancing health benefits through chlorophylls and chlorophyll-rich agro-food: A comprehensive review. *Molecules*, 28, 5344. [Link]
- Massumi, H., Maddahian, M., Heydarnejad, J., Hosseini Pour, A., & Farahmand, A. (2012). Incidence of viruses infecting alfalfa in the southeast and central regions of Iran. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 14, 1141-1148. [Link]
- Ministry of Agriculture, J. (2022). Agricultural Statistics: Horticultural and Greenhouse Products.
- Nitiema, L. W., & Sombié, P. A. E. D. (2019). Antioxidant responses of three pepper (*Capsicum annuum*) varieties against pepper veinal mottle virus. *Journal of Experimental Agriculture International*, 41, 1-10. [Link]
- Palukaitis, P., & García-Arenal, F. (2003). *Cucumoviruses* (Vol. 62).
- Pazarlar, S., GÜMÜŞ, M., & ÖZTEKİN, G. B. (2013). The effects of tobacco mosaic virus infection on growth and physiological parameters in some pepper varieties (*Capsicum annuum* L.). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 41, 427-433. [Link]
- Prakash, D., Raj, S. K., & Singh, B. P. (1995). Biochemical changes in cucumber mosaic virus (CMV)-infected *Amaranthus* and *Chenopodium*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 68, 299-303. [Link]
- Rahman, M. S., Jahan, K., Sabuz, A. A., & Akanda, A. M. (2019). Effects of Cucumber mosaic virus on cellular components, host physiology and yield of Chilli. *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, 29, 219-230. [Link]
- Saadati, M., Ayyari, M., & Shams-bakhsh, M. (2022). Effect of the cucumber mosaic virus-Fny infection on the physiological and phytochemical properties of three green basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 57, 303-319. [Link]
- Salara, P., Jain, S., Bhardwaj, R. D., Rani, R., & Jhanji, S. (2023). Physiological and biochemical responses of chilli pepper (*Capsicum annuum* L.) to sudden wilt syndrome. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 126, 102038. [Link]
- Shakeel, T., Amer, M., Al-Saleh, M., Ashfaq, M., & Haq, M. (2016). Changes in chlorophyll, phenols, sugars and mineral contents of cucumber plants infected with cucumber mosaic virus. *Journal of Phytopathology and Pest Management*, 3(1), 1-11. [Link]
- Thiex, N. J., Anderson, S., Gildemeister, B., & Collaborators. (2019). Crude fat, diethyl ether extraction, in feed, cereal grain, and forage (Randall/Soxtec/submersion method): collaborative study. *Journal of AOAC International*, 86, 888-898. [Link]
- Thuphairo, K., Sornchan, P., & Suttisansanee, U. (2019). Bioactive compounds, antioxidant activity and inhibition of key enzymes relevant to Alzheimer's disease from sweet pepper (*Capsicum annuum*) extracts. *Preventive Nutrition and Food Science*, 24, 327-337. [Link]
- Wahyuni, Y., Ballester, A. R., Sudarmonowati, E., Bino, R. J., & Bovy, A. G. (2013). Secondary metabolites of *Capsicum* species and their importance in the human diet. *Journal of Natural Products*, 76, 783-793. [Link]
- Zarrillo, A., Minutolo, M., Alioto, D., & Errico, A. (2017). Ascorbic acid regulation in leaves and fruits of tomato ecotypes infected by Eggplant Mottled Dwarf Virus. *Scientia Horticulturae*, 225, 512-524. [Link]