

تأثیر ویروس مخطط توتون بر ارقام مختلف سویا در شرایط گلخانه

سمیرا شاملی^۱، فرشاد رخشنده رو^۲✉، محمدرضا صفرنژاد^۳ و سیده ساناز رمضانپور^۴

۱ و ۲- به ترتیب دانشجوی دکتری و استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران؛ ۳- دانشیار، بخش تحقیقات ویروس‌شناسی، موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران؛ ۴- دانشیار، گروه بیوتکنولوژی و اصلاح نباتات، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران (تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۶؛ تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۷)

چکیده

ویروس مخطط توتون (*Tobacco streak virus*) یکی از مهم‌ترین ویروس‌های مخرب محصولات زراعی بوده و به‌عنوان عامل سوختگی جوانه‌های سویا در نقاط مختلف دنیا گزارش شده است. در این پژوهش، واکنش ارقام رایج سویا در شمال کشور نسبت به این ویروس و تأثیر احتمالی آن بر سویا در شرایط گلخانه ارزیابی شد. پژوهش به‌صورت طرح کاملاً تصادفی در قالب فاکتوریل با دو تیمار جدایه‌های ویروس (جدایه‌های سویا، ماش و آفتابگردان) و ارقام سویا (ویلیامز، امیر، کتول، سامان، ساری) در سه تکرار انجام شد. برای اثبات آلودگی بوته‌ها از آزمون الایزای مستقیم با استفاده از آنتی‌سرم چند همسانه‌ای TSV و واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با استفاده از آغازگرهای اختصاصی ویروس استفاده شد. نتایج نشان داد جدایه‌های ویروس به‌طور معنی‌داری باعث کاهش ارتفاع بوته‌ها، کاهش تعداد گره‌ها و کاهش تعداد غلاف‌های سالم شدند. ارقام نیز دارای تأثیر معنی‌دار بر شاخص‌های رشدی ارتفاع بوته، تعداد گره، تعداد غلاف‌سالم، و وزن تر بوته‌ها بودند. کمترین میزان تفاوت شاخص‌های رشدی و میزان غلاف‌بندی نسبت به نمونه شاهد در رقم ویلیامز و بیشترین آنها در ارقام امیر و کتول مشاهده گردید. شدت علایم ایجاد شده توسط جدایه سویا بیشتر از دو جدایه ماش و آفتابگردان بود. نتایج حاکی از تأثیر معنی‌دار جدایه‌های ویروس و ارقام بر غلاف‌بندی سویا بود. واژه‌های کلیدی: غلاف‌بندی سویا، گلخانه، ویروس مخطط توتون (TSV).

Effect of *Tobacco streak virus* on in different soybean cultivars in greenhouse conditionsS. SHAMELI¹, F. RAKHSHANDEHROO²✉, M. R. SAFARNEJAD³ and S. S. RAMEZANPOOR⁴

1 and 2. PhD. student & Assistant Professor, Respectively; Department of Plant Protection, College of Agriculture Sciences and Food Industries, Science and Research Branch, Islamic Azad university, Tehran, Iran; 3. Associate Professor, Department of Plant virology, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran; 4. Associate Professor, Faculty of plant production, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, Gorgan, Iran

Abstract

Tobacco streak virus is one of the most important destructive viruses of crops, and reported as a causal agent of soybean bud blight in different region of world. In this study, the response of soybean cultivars, that were common in the north of Iran, was evaluated to TSV and the possible effect of virus on soybean, under greenhouse conditions. This research was carried out in two way factorial arrangement on a CRD (completely randomized design) with virus isolates (soybean, mungbean and sunflower isolates) and soybean cultivars (Williams, Amir, Katol, Saman, Sari) as treatments in 3 replications. Plants were tested for TSV infection by DAS-ELISA method with specific polyclonal antibody, and polymerase chain reaction (PCR) with specific designed primer. Results showed that viral isolates significantly reduced the plant length, number of nodes, and number of healthy pods. Cultivars had significant effect on growth indices: plant length, number of nodes, number of pod and fresh weight, too. The lowest differences in growth indices and podding in compare of control group observed in Williams cultivar whereas the highest seen in Amir and Katol cultivars. The symptoms caused by soybean isolate were more severe than mungbean and sunflower isolates. Results indicated significant effect of viral isolates and soybean cultivars on podding.

Key words: Greenhouse, podding, soybean, *Tobacco streak virus* (TSV).

مقدمه

ویروس مخطط توتون (*Tobacco streak virus*, TSV) متعلق به زیرگروه اجنس *Ilarvirus* و خانواده *Bromoviridae* می‌باشد. این ویروس دارای دامنه میزبانی و پراکنش گسترده‌ای بوده و خسارت زیادی بر محصولات کشاورزی وارد می‌کند (Kaiser, et al., 1982) و از کشورهای آمریکا، کانادا، برزیل، آرژانتین، شیلی، هندوستان، چین، ژاپن، پاکستان، آفریقای جنوبی، سودان، استرالیا، دانمارک، فرانسه، ایتالیا، روسیه و انگستان گزارش شده است (Sharman et al., 2008). این خصوصیات، TSV را به یکی از مهم‌ترین و اقتصادی‌ترین ویروس‌های مخرب محصولات زراعی تبدیل کرده است. ویروس مخطط توتون به طریقه‌ی مکانیکی، با عصاره‌ی گیاهی و از طریق بذری با کارایی بالا منتقل شده و انتقال ویروس از طریق تریس و دانه‌ی گرده نیز گزارش شده است (Jagtap et al., 2012; Kaiser et al., 1982). خانواده‌های Brassicaceae, Asparagaceae, Apocynaceae, Amaranthaceae, Rosaceae, Fabaceae, Graminea, Cucurbitaceae, Cruciferaceae, Solanaceae و Malvaceae به‌عنوان میزبان‌های TSV معرفی شده‌اند. علایم متفاوتی از ویروس مخطط توتون روی میزبان‌های مختلف گزارش شده است و آلودگی توتون، پنبه، گوجه فرنگی، سویا، بادام‌زمینی، آفتابگردان، توت فرنگی و کوکب را سبب می‌شود (Ahmed et al., 2003; Ravi et al., 2001; Sharman et al., 2016; Hosseini et al., 2012).

علایم TSV در گیاه توتون، سوختگی و نکروز سیستمیک، در لویا قرمز شدن گره‌ها، در آفتابگردان سیاه شدن ساقه و دم‌برگ، کوتولگی و نکروز برگ‌ها و کاهش رشد و در نهایت مرگ آفتابگردان، و علایم خاص در سویا کلروز و نکروز برگ‌ها، و کوتولگی بوته‌ها عنوان شده است (Almeida et al., 1994; Bhat et al., 2002a; Prasad Rao et al., 2006; Arun kumar et al., 2003). همچنین ایجاد موزاییک، لکه برگی، چروک خوردگی برگ‌ها، لکه‌دار شدن پوسته بذر و تغییر رنگ بذور نیز از علایم آلودگی به TSV در سویا اعلام

شده است. علایم TSV در سویا می‌تواند از ۲۰-۱۵ روز پس از کاشت مشاهده شود (Kaiser et al., 1982).

سویا (*Glycine max. L*) گیاهی یک ساله و دو لپه متعلق به تیره Fabaceae و یکی از مهم‌ترین دانه‌های روغنی در جهان است. مانند سایر محصولات، تحت تأثیر عوامل بیماری‌زای ویروسی دچار خسارت شده و عملکرد آن کاهش می‌یابد. در سال ۱۹۵۵ اولین بار ارتباط بین سوختگی جوانه‌های سویا با TSV مطرح شد (Costa and Carvalho, 1961). پس از آن TSV به‌عنوان عامل سوختگی جوانه سویا در آمریکا و برزیل گزارش شد و در حالات شدید و بسته به رقم، خسارت ۱۰۰ درصدی به محصول وارد نمود (Almeida et al., 1994; Almeida et al., 2005; Rabedeaux et al., 2005).

در هندوستان طی سال‌ها عارضه‌ای به نام بادبلایت سویا با علایم کلروز و نکروز برگ، ساقه و جوانه، و کوتولگی بوته‌ها گزارش شد که باعث خسارت جدی به مزارع سویا شد. براساس آزمون‌های سرولوژیکی و مولکولی، عامل عارضه TSV گزارش گردید که سبب خسارتی تا ۴۰ درصد در مزارع سویا شد (Arun kumar et al., 2008; Prasad Rao et al., 2002b; Bhat et al., 2000; et al., 2000). به‌دنبال آن TSV به‌عنوان یک ویروس مهم خسارت‌زا علاوه بر سویا از سایر محصولات نیز گزارش شد (Jain et al., 2005; Sivaprasad et al., 2010; Bhaskara Reddy et al., 2012). بیشتر نیز علایمی به صورت نکروز و بادبلایت از آفتابگردان و بادام‌زمینی با عامل TSV از هندوستان گزارش شده بود (Bhat et al., 2002a). عارضه‌ای به نام سبزماندگی ساقه سویا به‌عنوان یکی از معضلات کشت سویا از ایالات متحده آمریکا با وقوع ۱۰۰ درصد در برخی مزارع گزارش شد که به‌صورت تأخیر رسیدگی ساقه (سبزماندگی ساقه) در مقابل رسیدگی غلاف و دانه قابل مشاهده بود و مشکلات فراوانی را در زمان برداشت سبب می‌شد (Hill et al., 2006; Hobbs et al., 2006). عوامل مؤثر بر عارضه سبز ماندگی ساقه سویا مانند ویروس‌ها، قارچ‌ها و سایر عوامل در بین ارقام مختلف بررسی

گام اول، بررسی تأثیر TSV بر ارقام سویا و اثر احتمالی آن بر عارضه اختلال در غلاف‌بندی در شرایط گلخانه انجام شد تا پس از حصول نتایج اولیه، واکنش ارقام نسبت به TSV در شرایط طبیعی مزرعه مورد آزمون قرار گیرد.

با توجه به این‌که تعیین تحمل نسبی ارقام و ژنوتیپ‌های گیاهی به بیمارگرها به عنوان یکی از عوامل محدود کننده گیاهان زراعی، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است می‌توان با ارزیابی واکنش ارقام به عوامل مختلف با اطمینان بیشتری نسبت به کشت محصولات در مناطق مختلف اقدام نمود.

در بررسی واکنش ارقام بادام زمینی و آفتابگردان نتایج تحقیقات محققین نشان داده است که انتقال TSV به طریقه مکانیکی و در شرایط گلخانه بسیار موثرتر از سایر روش‌ها می‌باشد (Kumar et al., 2005; Reddy et al., 2000). در صورتی که مایه‌زنی ویروس سبب نکروز سیستمیک بوته‌ها در مراحل اولیه آلودگی نشود و بوته‌ها با وجود آلودگی به رشد خود ادامه دهند، شاخص‌های رشدی و عملکرد بوته‌ها به میزان قابل توجهی کاهش خواهد یافت. البته توجه به خصوصیات تیپ رشدی ارقام مختلف ضروری می‌باشد.

روش بررسی

مایه‌زنی ویروس: جهت بررسی اثر TSV بر ۵ رقم سویای متداول در شمال کشور (ویلیامز، امیر، کتول، سامان و ساری)، بذور این ارقام درون گلدان‌های پلاستیکی به ارتفاع و قطر ۲۴ سانتی‌متر حاوی خاک مناسب (soil-sand-peat ۱:۱:۱) کشت شد. نمونه‌های سویا، ماش و آفتابگردان مشکوک به آلودگی به TSV از مزارع استان‌های گلستان و مازندران جمع‌آوری و آزمون‌های الایزا و PCR انجام شد. جهت خالص سازی بیولوژیکی و مقایسه جدایه‌های مختلف ویروس از لکه‌های موضعی کلروتیک حاصل از مایه‌زنی جدایه‌های جمع‌آوری شده از میزبان‌های مختلف بر روی میزبان تک لکه *Chenopodium quinoa* استفاده شد. پس از ظهور لکه‌ها، توسط اسکالپل سترون لکه‌ها جدا شد و با استفاده از بافر

شد (Hill et al., 2013). علی‌رغم تلاش فراوان علت اصلی عارضه مشخص نشد اما تنوع ژنتیکی ارقام سویا به‌عنوان عامل اصلی مقاومت و حساسیت به عارضه سبزماندگی عنوان شد. در ایران در سال ۱۳۶۴ عارضه‌ای به نام اختلال در غلاف‌بندی سویا از استان گلستان گزارش شد که در کمیت محصول تأثیر فراوان داشت. این عارضه در مزارع سویای دیرکشت شدیدتر بود و به شکل‌های گوناگون عدم باردهی و کم باردهی به‌صورت لکه‌ای و گاهی در کل سطح مزرعه دیده می‌شد. این مزارع تا زمان برداشت به‌صورت سبز و رویشی باقی مانده و غلاف‌ها به‌صورت مجتمع، نابالغ و سبز روی گیاه مشاهده می‌شد (Cheraghali, 1990). اگرچه چند دهه از اولین علائم بروز این عارضه می‌گذرد ولی هنوز عامل قطعی این عارضه مشخص نیست.

براساس مطالعاتی که در خصوص عارضه اختلال در غلاف‌بندی سویا انجام پذیرفت، عواملی مانند ارقام سویا، سال زراعی، مکان جغرافیایی، تنش‌های گرمایی، عوامل ویروسی، آفات مکنده، تیمارهای شیمیایی و زمان کاربرد آن‌ها و ... به عنوان عوامل احتمالی مؤثر بر عارضه اختلال مطرح شده است (Cheraghali, 1990; Hill et al., 2006).

در بررسی‌های مقدماتی که در زمینه بیماری‌های ویروسی صورت گرفت، احتمال تأثیر برخی ویروس‌ها در بروز عارضه مطرح گردید اما تحقیقات اولیه منجر به نتایج خاصی نگردید. رحیمیان و همکاران احتمال وجود ویروس لکه حلقوی توتون (TRSV)، لکه حلقوی گوجه فرنگی (ToRSV) و مخطط توتون (TSV) را در بروز عارضه مطرح نمودند (Rahimian et al., 1996). نظر به این‌که براساس منابع و گزارشات موجود، TSV به‌عنوان یک ویروس مخرب در سویا، می‌تواند علایمی شبیه عارضه اختلال در غلاف‌بندی ایجاد کند، و با توجه به سطح زیرکشت و اهمیت اقتصادی سویا در مناطق شمالی کشور و خسارت نسبتاً زیاد TSV در این محصول (Golnaraghi et al., 2004)، و به دلیل عدم اطلاع کافی از میزان حساسیت ارقام سویا به ویروس مخطط توتون، در

سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند و سپس وزن خشک بوته‌ها محاسبه گردید. وزن تر و خشک بوته‌های مایه‌زنی شده با نمونه‌های شاهد برای هر رقم مقایسه گردید (Poorter and De Jong, 1999).

اندازه‌گیری غلظت نسبی پروتئین‌های ویروس:

اندازه‌گیری غلظت ویروس در ارقام مختلف سویا توسط آزمون الایزا انجام شد. برگ‌های میانی هر بوته یک هفته پس از مایه‌زنی با روش الایزای مستقیم و با استفاده از آنتی سرم چند همسانه‌ای ویروس TSV بر پایه روش کلارک و آدامز مورد آزمون قرار گرفت (Clark and Adams, 1977). رقت آنتی سرم و کاندیوگیت بر اساس پروتکل شرکت سازنده (بایوربا، سوییس) ۱:۵۰۰ در نظر گرفته شد. عصاره‌گیری نمونه‌ها به نسبت ۱:۱۰ در بافر عصاره‌گیری با pH= ۷/۴ انجام شد. در مرحله انتهایی و جهت تغییر رنگ چاهک‌ها ۱۰ میلی‌گرم قرص پارانیتروفنیل فسفات (PNPP) در ۱۰ میلی‌لیتر بافر سوبسترا حل شد. چگالی نوری چاهک‌ها بر اساس تغییر رنگ چاهک‌ها با استفاده از دستگاه الایزا خوان بایورد مدل ۸۰۰ EL و در طول موج ۴۰۵ اندازه‌گیری و با توجه به میزان جذب شاهد منفی، آستانه جذب چاهک‌های آلوده با استفاده از فرمول X+3SD تعیین شد. برای هر نمونه ۳ تکرار در نظر گرفته شد.

استخراج RNA کل گیاه: جهت ردیابی و اطمینان از

حضور ویروس در بوته‌های مایه‌زنی شده، استخراج RNA کل با استفاده از کیت RNase Plant Mini Kit (Qiagen, Germany) انجام شد. میزان ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت گیاهی در ازت مایع خرد شد و مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده مراحل استخراج انجام گردید. RNA استخراج شده در ۳۰ میکرولیتر آب عاری از RNase محلول و در دمای ۸۰- درجه سلسیوس نگهداری شد.

ساخت DNA مکمل و واکنش زنجیره‌ای پلیمرز

(RT-PCR): ساخت DNA مکمل (cDNA) در آزمون نسخه بردار معکوس با استفاده از RNA تیمار شده با DNaseI، آنزیم

عصاره‌گیری فسفات پتاسیم ۰/۰۱ مولار با pH ۷/۲ حاوی ۰/۰۲ درصد بازدارنده Na_2SO_4 مایه زنی بر روی میزبان‌های تکثیر *Nicotiana benthamiana* و *Datura stramonium* انجام و به عنوان منبع ویروس در گلخانه نگهداری شدند.

ارقام کشت شده سویا در مرحله ۴ تا ۶ برگی با سه جدایه TSV جدا شده از سویا، ماش و آفتابگردان به صورت مکانیکی مایه‌زنی شدند. بوته‌های مایه‌زنی شده با آب مقطر سترون شسته و به مدت ۱۲ ساعت در مکان تاریک قرار گرفت. سپس بوته‌ها در گلخانه در دمای ۱۸-۲۲ درجه سلسیوس تحت شرایط عاری از آفات قرار داده شدند. برای هر رقم ۵ گلدان در نظر گرفته شد و ۳ گلدان نیز به عنوان شاهد برای هر رقم کشت گردید. نمونه‌های شاهد تنها با بافر مایه‌زنی شدند.

ارزیابی شاخص بیماری: علایم به صورت روزانه

بررسی و از ۷ روز پس از مایه‌زنی، تغییرات غلظت پروتئین ویروس در گیاهان مایه‌زنی شده با آزمون الایزای مستقیم بر پایه روش کلارک و آدامز و با استفاده از آنتی سرم چند همسانه‌ای TSV (تهیه شده از شرکت Bioreba سوییس) با رقت ۱:۵۰۰ بررسی گردید (Clark and Adams, 1977). در نمونه‌های فاقد علایم مشخص یا نتیجه منفی در آزمون الایزا، از روش PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی طراحی شده برای تکثیر بخشی از پروتئین پوششی TSV برای اثبات آلودگی استفاده گردید. از میان گیاهان دارای نتیجه مثبت در آزمون الایزا، تعداد ۳ بوته برای هر رقم انتخاب شد. علایم ایجاد شده در بوته‌ها و رقت ویروس در بافت‌های گیاهی از یک هفته پس از مایه‌زنی تا مرحله رسیدگی فیزیولوژیک بررسی شد. اندازه‌گیری ارتفاع بوته، تعداد گره، تعداد غلاف‌های هر بوته، وزن خشک و تر بوته‌ها در مرحله رسیدگی فیزیولوژیک انجام شد.

اندازه‌گیری وزن تر و خشک بوته‌ها: بوته‌ها از گلخانه

به آزمایشگاه منتقل و به وسیله ترازوی دیجیتالی توزین گردید (وزن تر). برای تعیین وزن خشک، بوته‌ها در آون ۷۰ درجه

در اکثر بوته‌های مایه‌زنی شده با جدایه سویا علائم کلروز ۱۰-۷ روز پس از مایه‌زنی مشاهده شد. همچنین در بیشتر بوته‌ها کلروز سیستمیک، کوتولگی، و گاهی نکروز سیستمیک ایجاد گردید. در این تحقیق رقم ویلیامز به ندرت علائم نکروز سیستمیک را نشان داد. شدت علائم ایجاد شده در سویا توسط دو جدایه ماش و آفتابگردان کمتر از جدایه سویا بود. بر اساس نتایج Ghanekar and Schwenk (1974) و Almeida *et al.* (2005) جدایه‌های مختلف TSV علائم متفاوتی را در سویا ایجاد می‌نمایند که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت. نتایج آزمون الیزا نشان داد که ۸۰ درصد نمونه‌های مایه‌زنی شده با TSV آلوده به ویروس بودند. از آزمون RT-PCR با استفاده از آغازگرهای اختصاصی TSV جهت اثبات آلودگی استفاده شد. با استفاده از آغازگر اختصاصی ویروس قطعه‌ای به طول ۶۷۲ جفت باز برای تمام جدایه‌ها در واکنش RT-PCR به دست آمد در حالی که این قطعه در نمونه‌های شاهد سالم تکثیر نشد.

ارزیابی واکنش ارقام: عکس‌العمل ۵ رقم سویا با تیپ‌های رشدی متفاوت، نسبت به TSV بررسی گردید (جدول ۱ و ۲). بر اساس آنالیزهای آماری، اثر جدایه‌های ویروس بر ارتفاع بوته‌ها، تعداد گره، تعداد غلاف سالم ($P < 0.05$) و تعداد غلاف بدفرم و دارای اختلال ($P < 0.01$) معنی‌دار بود درحالی که روی وزن خشک، وزن تر و OD معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). رقم بر تمام خصوصیات ذکر شده به جز تعداد غلاف سالم و وزن خشک بوته‌ها اثر معنی‌دار داشت ($P < 0.01$). در بررسی اثر متقابل جدایه و رقم، اختلاف معنی‌دار در تعداد غلاف‌های دارای اختلال مشاهده شد (جدول ۱).

ارتفاع بوته: رقم ساری مایه‌زنی شده با جدایه سویا و ماش بیشترین کاهش ارتفاع را نسبت به سایر ارقام نشان داد. جدایه‌های مختلف ویروسی در تمام ارقام باعث کاهش ارتفاع بوته‌ها نسبت به نمونه شاهد گردیدند. کاهش ارتفاع در ارقام امیر (هر سه جدایه)، ساری (جدایه سویا و ماش) و کتول

MmuLV شرکت فرمتاز و آغازگر اختصاصی برگشتی ویروس طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. cDNA ساخته شده به عنوان الگو در واکنش پی‌سی‌آر مورد استفاده قرار گرفت. واکنش پی‌سی‌آر در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر با استفاده از آغازگرهای طراحی شده برای این تحقیق رفت (AGTCCAGACCATCCATCCAAC) و برگشت (TGGTGGCATCAAGGGAGCT) انجام گرفت. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز جهت تکثیر منطقه ژنتیکی مربوط به قسمتی از پوشش پروتئینی ویروس انجام شد. جهت انجام الکتروفورز افقی از ژل آگاروز یک درصد و بافر TBE IX استفاده شد.

آنالیزهای آماری: آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی در قالب فاکتوریل با دو تیمار جدایه ویروس (در ۳ گروه جدایه جداسازی شده از سویا، ماش و آفتابگردان) و ارقام سویا (در ۵ گروه ویلیامز، امیر، کتول، سامان و ساری) در ۳ تکرار، در گلخانه مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان، انجام گرفت. آنالیز داده‌ها با استفاده از آزمون تجزیه و تحلیل واریانس دو طرفه (ANOVA)، و مقایسه میانگین‌ها، و مقایسه با گروه شاهد با آزمون LSD در سطح اطمینان ۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار SPSS16 انجام شد.

نتیجه و بحث

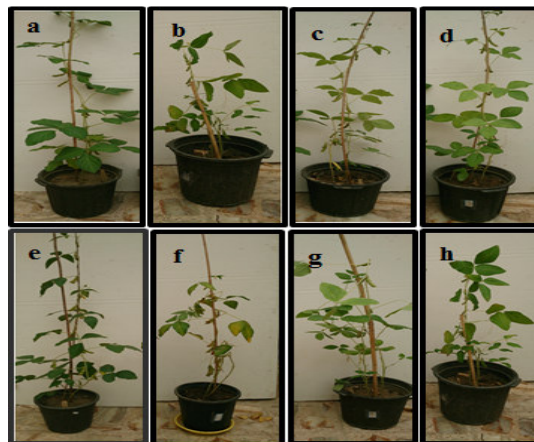
شناسایی ارقام مقاوم به بیماری‌ها یکی از اولین اقدامات در تعیین و انتخاب مناسب ارقام زراعی برای کاشت می‌باشد. نمونه‌های سویا، ماش و آفتابگردان مشکوک به TSV از مزارع استان‌های گلستان و مازندران جمع‌آوری شدند و مثبت بودن آلودگی در آن‌ها با استفاده از آنتی بادی پلی‌کلونال اختصاصی برای TSV در آزمون الیزا اثبات گردید. خالص‌سازی بیولوژیکی جدایه‌ها روی گیاه سلمک *Chenopodium quinoa* انجام شد و برای نگهداری و تکثیر ویروس از *Nicotiana benthamiana* و *Datura stramonium* استفاده گردید.

ایجاد شده در فیزیولوژی میزبان، با علایم متفاوتی بروز می‌کند (Agrios, 2005). با توجه به این که علایم خاص TSV در سویا کوتولگی بوته‌ها و نکروز برگ‌ها عنوان شده است نتایج حاصل از مایه‌زنی ارقام مختلف سویا با TSV، و کاهش ارتفاع و گره در بوته‌ها، می‌تواند بیانگر تأثیر آلودگی TSV در ارقام سویا باشد (Jain *et al.*, 2005; Sivaprasad *et al.*, 2010; Bhaskara Reddy *et al.*, 2012). اگرچه برای تأیید تأثیر هر نژاد اختصاصی از ویروس مذکور در ارقام مختلف سویا نیاز به تحقیقات تکمیلی می‌باشد.

غلاف‌های سالم: تعداد غلاف در بوته یکی از مهم‌ترین عوامل افزایش عملکرد در سویا است. عوامل بیماری‌زا و شرایط نامساعد می‌توانند بر تعداد و کیفیت غلاف‌های سالم بوته‌ها تأثیر بگذارند و آن را کاهش دهند. همان‌طور که در جدول شماره ۳ قید شده است ارقام مایه‌زنی شده با جدایه‌های مختلف ویروس، در اغلب موارد از نظر تعداد غلاف‌های سالم با نمونه‌های شاهد دارای تفاوت معنی‌دار بودند، اگرچه این کاهش در برخی موارد معنی‌دار نبود. تمام ارقام مایه‌زنی شده با جدایه‌های سویا و ماش (به جز رقم سامان مایه‌زنی شده با جدایه ماش) کاهش معنی‌دار تعداد غلاف‌های سالم نسبت به نمونه شاهد مشاهده شد. جدایه آفتابگردان تأثیر کمتری بر کاهش تعداد غلاف‌ها داشت و کاهش معنی‌دار تعداد غلاف‌های سالم در همه ارقام مشاهده نشد. جدایه‌های ویروس دارای تأثیر معنی‌دار بر تعداد غلاف‌های سالم بودند اما ارقام تأثیر معنی‌دار بر تعداد غلاف‌های سالم ایجاد ننمودند (جدول شماره ۱). بیشترین تعداد غلاف‌های سالم در رقم ویلیامز شاهد مشاهده شد.

غلاف‌های بدفرم و بدشکل (دارای اختلال): مایه‌زنی ویروس در ارقام مختلف سویا در شرایط گلخانه سبب ایجاد غلاف‌های نارس و بدفرم شد اما اختلال ایجاد شده در غلاف‌ها با اختلال در شرایط طبیعی تفاوت داشت. جدایه‌های ویروس و ارقام تأثیر معنی‌دار بر تعداد غلاف‌های بدفرم و بدشکل داشتند (جدول شماره ۱). تأثیر جدایه سویا در

سامان (جدایه سویا) معنی‌دار بود. کاهش ارتفاع بوته‌ها توسط جدایه سویا در همه ارقام (به جز ویلیامز) نسبت به نمونه شاهد معنی‌دار بود. مایه‌زنی جدایه‌های مختلف ویروس در ارقام سامان و ساری تفاوت معنی‌داری بر ارتفاع بوته‌ها ایجاد نمود (شکل ۱).



شکل ۱- مایه‌کوبی TSV در ارقام ویلیامز (a,b,c,d) و کتول (e,f,g,h). a و e بوته‌های شاهد سالم، b و f بوته‌های آلوده به جدایه سویا، c و g بوته‌های آلوده به جدایه ماش، d و h بوته‌های آلوده به جدایه آفتابگردان.

Fig. 1. Symptoms associated with the TSV inoculation on Williams (a,b,c,d) and Katol (e,f,g,h) cultivars. (a, e) healthy control, (b, f) samples infected with soybean isolate of TSV, (c, g) samples infected with mung bean isolate of TSV, (d, h) samples infected with sunflower isolate of TSV.

تعداد گره: جدایه‌های ویروس تأثیر معنی‌داری بر تعداد گره‌ها در ارقام ویلیامز، کتول و سامان نداشتند اما در ارقام امیر و ساری تفاوت معنی‌داری بین جدایه‌ها وجود داشت. در جدایه سویا بیشترین تعداد گره در رقم سامان مشاهده شد که نسبت به رقم کتول اختلاف معنی‌داری نداشت ولی نسبت به سایر ارقام تفاوت معنی‌دار بود. در دو جدایه ماش و آفتابگردان نیز بیشترین تعداد گره در رقم سامان مشاهده شد. جدایه سویا در همه ارقام (به جز ویلیامز) کاهش معنی‌دار در تعداد گره نسبت به نمونه شاهد را ایجاد نمود. بسته به نوع عامل بیمارگر وبافت آلوده میزبان، اختلالات

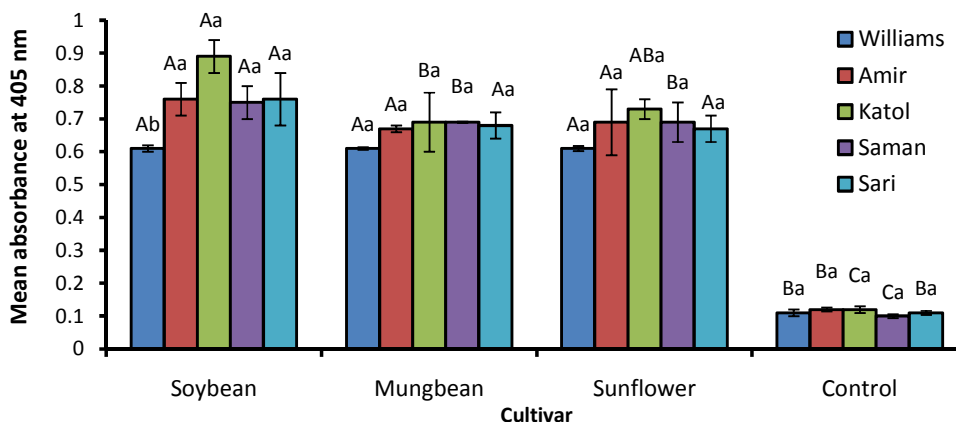
براساس نتایج جدایه سویا باعث کاهش معنی‌دار وزن خشک در ارقام امیر، کنول و ساری نسبت به نمونه شاهد شد. در مقادیر وزن خشک در بین ارقام مختلف، اختلاف معنی‌داری نداشت.

میزان جذب (OD): بیشترین مقدار OD در رقم کنول و کمترین در رقم ویلیامز اندازه‌گیری گردید. تمامی ارقام و جدایه‌ها نسبت به گروه شاهد دارای اختلاف معنی‌داری بودند. نوع رقم اثر معنی‌دار بر میزان OD داشت اما جدایه و اثر متقابل رقم و جدایه تأثیر معنی‌داری بر میزان OD نداشت (شکل ۲).

براساس نتایج این پژوهش، مایه زنی ویروس به‌طور معنی‌دار شاخص‌های رشدی بوته‌ها را کاهش داد. جدایه‌های ویروسی به‌طور معنی‌داری باعث کاهش ارتفاع بوته‌ها، تعداد گره‌ها، تعداد غلاف‌های سالم و افزایش غلاف‌های بدفرم شدند که این تأثیر در مورد جدایه سویا واضح‌تر بود و جدایه‌های ماش و آفتابگردان علایم خفیف‌تری ایجاد نمودند. به نظر می‌رسد به دلیل وجود تنوع ژنتیکی و تیپ رشدی متفاوت در ارقام سویا، این ارقام از نظر برخی خصوصیات واکنش‌های متفاوتی را در اثر مایه زنی ویروس نشان دادند. کمترین میزان تفاوت شاخص‌های رشدی نسبت به نمونه شاهد (ارتفاع بوته، تعداد گره، وزن تر و خشک و ...) و کمترین میزان اختلال در غلاف‌بندی در رقم ویلیامز مشاهده شد.

افزایش تعداد غلاف‌های دارای اختلال در ارقام مختلف نسبت به رقم ویلیامز معنی‌دار بود. تمام ارقام مایه‌زنی شده با جدایه سویا (به جز رقم ویلیامز) دارای اختلاف معنی‌دار در تعداد غلاف‌های دارای اختلال با گروه شاهد بودند. در مورد دو جدایه ماش و آفتابگردان، در برخی ارقام اختلاف معنی‌دار نسبت به شاهد مشاهده شد. رقم امیر و سامان مایه‌زنی شده با هر سه جدایه دارای تفاوت معنی‌داری با شاهد بودند ($P < 0.05$).

وزن تر و خشک: از مقایسه وزن تر هر یک از ارقام مایه‌زنی شده با جدایه‌های مختلف، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد اما تأثیر جدایه‌ها بر ارقام مختلف در بیشتر موارد معنی‌دار بود. به جز رقم ویلیامز، سایر ارقام تفاوت معنی‌دار کاهش وزن تر را نسبت به نمونه‌های شاهد نشان دادند. در بین ارقام مورد بررسی، کمترین وزن تر در رقم کنول مایه‌زنی شده با جدایه سویا مشاهده شد. بر اساس نتایج محققین نیز مایه‌زنی ویروس می‌تواند در کاهش وزن تر نمونه‌ها موثر باشد (Rabedeaux *et al.*, 2005; Kazinczi *et al.*, 2006; Kollmann *et al.*, 2007). وزن خشک یکی از مولفه‌های اصلی در بررسی شاخص‌های رشدی گیاهان می‌باشد. عوامل بیماری‌زا غالباً به دلیل تأثیر بر سیتولوژی گیاه و کاهش میزان فتوسنتز می‌توانند سبب کاهش وزن خشک بوته‌ها شوند (Azizi and Shamsbakhsh, 2014; Vinodkumar *et al.*, 2017).



شکل ۲- مقایسه میزان مقادیر میانگین جذب در بین جدایه‌ها و ارقام مختلف.
 Fig. 2. Comparisons of mean absorbance values between different isolates and cultivars.

جدول ۱- میانگین مربعات و سطوح معنی‌داری پارامترهای رشدی سویا در اثر مایه‌زنی جدایه‌های TSV و ارقام مختلف.

Table 1. Mean squares and significance levels of soybean growth parameters in the counter effect of inoculation with TSV isolates and different cultivars

Treatment (degree of freedom)	Parameter source	Plant length	Number of node	Disorder pod	Normal pod	Fresh weight	Dry weight	Absorbance at 405 nm
Isolate (2)	Mean square	282.3	7.47	26.9	29.5	17.7	528.5	0.02
	P value	0.045*	0.012*	0.0**	0.016*	0.7	0.058	0.004
cultivars (4)	Mean square	2514.1	17.7	7.02	8.81	558.4	231.4	0.018
	P value	0.0**	0.0**	0.002**	0.25	0.0**	0.27	0.002**
Isolate×cultivars (8)	Mean square	102.6	3.77	3.17	3.71	93.9	132.4	0.003
	P value	0.31	0.03*	0.03*	0.7	0.14	0.6	0.4
(30)	Error	82.2	1.47	1.27	6.22	54.9	169	0.003

*, ** Significant at the 0.05 and 0.01 probability levels, respectively

جدول ۲- تأثیر جداگانه جدایه‌های ویروس و ارقام بر شاخص‌های رشدی سویا.

Table 2. The effects of isolates and cultivars on soybean growth parameters separately.

		Plant length	Number of node	Disorder pod	Normal pod	Fresh weight	Dry weight	Absorbance at 405 nm
Isolate	Soybean	82.4±18.5 ^b	8.87±1.8 ^b	5.67±1.9 ^a	7.9±2.2 ^b	80±9.8 ^a	50.3±14.2 ^b	0.73±0.1 ^a
	Mung bean	83.7±21.6 ^b	10.2±2.2 ^a	3.2±1.3 ^b	9.5±2.6 ^{ab}	81.7±12.6 ^a	58.3±13.8 ^{ab}	0.69±0.06 ^a
	Sunflower	90.5±11.9 ^a	9.93±1.5 ^a	3.35±1.2 ^b	10.7±2.6 ^a	82±8.7 ^a	62.2±10.6 ^a	0.71±0.07 ^a
cultivars	Will	93.1±4.8 ^a	8.33±0.9 ^c	2.67±1.1 ^b	9.1±2.9 ^a	75.1±3.6 ^c	51.4±5.4 ^a	0.63±0.03 ^c
	Amir	98.1±9.5 ^a	9.44±2.5 ^{bc}	4.56±2.2 ^a	8±3.5 ^a	92.5±8.9 ^a	57.7±19.9 ^{ab}	0.72±0.08 ^{ab}
	Katol	78.8±14.8 ^b	10±1.3 ^b	5±1.93 ^a	9.9±2.3 ^a	73.2±9.1 ^c	55.2±17.2 ^{ab}	0.78±0.09 ^a
	Saman	98.3±5.1 ^a	11.9±0.9 ^a	4.11±1.3 ^{ab}	9.2±1.9 ^a	85.3±7.6 ^{ab}	65.1±6.7 ^a	0.72±0.05 ^{ab}
	Sari	59.2±11.1 ^c	8.67±1.2 ^c	4.33±1.8 ^{ab}	10.7±2.1 ^a	80±8.4 ^{bc}	55.4±11.5 ^{ab}	0.7±0.05 ^b

Same letters are not significantly different

حروف مشترک به معنی عدم تفاوت معنی‌دار میباشد.

کشت و برخی عوامل مؤثر بر رشد بوته‌های سویا در گلخانه متفاوت از زمین اصلی است و این می‌تواند از دلایل احتمالی عدم انطباق کامل علائم اختلال با شرایط طبیعی باشد بنابراین لازم است جهت بررسی نقش دقیق TSV در عارضه اختلال و تصمیم‌گیری کامل‌تر، واکنش این ارقام در شرایط طبیعی و در مزرعه بررسی گردد. در گذشته تأیید شده بود که نور می‌تواند در میزان تکثیر و توان بیماری‌زایی TSV در ارقام مختلف سویا تأثیر گذار باشد (Vinodkumar et al., 2017).

سایر ارقام نسبت به ویروس تأثیر بیشتری پذیرفتند، ارقام امیر و کتول اختلال در غلاف‌بندی بیشتری نشان دادند. اثر متقابل رقم و جدایه‌های ویروس نیز اثر معنی‌داری بر تعداد غلاف‌های دارای اختلال داشت که می‌توان این نتیجه را به عنوان یکی از نتایج مهم پژوهش برشمرد. قابل ذکر است که بر اساس مشاهدات مزرعه‌ای در مناطق مختلف استان نیز، رقم ویلیامز اختلال در غلاف‌بندی کمتری نسبت به سایر ارقام نشان می‌داد. البته باید به این نکته توجه نمود که شرایط نور و

جدول ۳- تأثیر نوع ارقام و مایه زنی آن‌ها با جدایه‌های ویروس بر شاخص‌های رشدی سویا در مقایسه با تیمار شاهد.

Table 3. The effects of cultivars and inoculation with TSV on soybean growth parameters comparing with the control treatment.

Parameter	Cultivar	Soybean	Mung bean	Sunflower	Control
Plant length	Will	91.6±7.02 ^{Aa}	93.3±4.5 ^{Ab}	94.3±4.04 ^{Aa}	98.3±7.7 ^A
	Amir	98.7±10 ^{Ba}	98.3±7.6 ^{Ba}	97.3±14.2 ^{Ba}	118±3.6 ^A
	Katol	71±9.6 ^{Bb}	76.7±22.5 ^{ABb}	88.7±5.1 ^{ABa}	95±3.6 ^A
	Saman	95.7±5.1 ^{Ba}	100±5 ^{Ab}	99.3±6.03 ^{ABa}	106.7±6.1 ^A
	Sari	55±5 ^{Bc}	50±5 ^{Bc}	72.7±4.6 ^{Ab}	74.3±10.06 ^A
Number of node	Will	8±1 ^{Ab}	8.3±1.1 ^{Ac}	8.7±0.6 ^{Ab}	9.3±0.6 ^A
	Amir	7.7±1.5 ^{Bb}	12±1.7 ^{Aab}	8.7±2.1 ^{Bb}	13.7±0.6 ^A
	Katol	9.7±1.1 ^{Bab}	9.7±2.1 ^{Bbc}	10.7±0.6 ^{Bab}	13±0 ^A
	Saman	11.3±1.1 ^{Ba}	12.7±0.6 ^{ABa}	11.7±0.6 ^{ABa}	13±1 ^A
	Sari	7.7±0.6 ^{Cb}	8.3±0.6 ^{Cc}	10±1 ^{Bab}	11.7±0.6 ^A
Disorder pod	Will	3±1.7 ^{Ab}	2.67±1.1 ^{Aa}	2.33±0.6 ^{Ab}	1±1 ^A
	Amir	7.3±0.6 ^{Aa}	3.33±0.6 ^{Ba}	3±1 ^{Bb}	1.33±1.2 ^C
	Katol	7±1 ^{Aa}	4±2 ^{Ba}	4±1 ^{Bab}	1.67±1.5 ^B
	Saman	5.3±1.5 ^{Aa}	3.67±0.6 ^{Aa}	3.33±0.6 ^{Ab}	0.7±0.6 ^B
	Sari	5.7±0.6 ^{Aa}	2.33±1.5 ^{Ba}	5±1 ^{Aa}	1±1 ^B
Normal pod	Will	6.3±0.6 ^{Ca}	8.7±2.5 ^{Ca}	12.3±0.6 ^{Ba}	19.7±1.5 ^A
	Amir	8±1.7 ^{Ba}	7.7±4.9 ^{Ba}	8.3±4.7 ^{Ba}	17.7±3.2 ^A
	Katol	8.3±3.06 ^{Ba}	10±2 ^{Ba}	11.3±0.6 ^{ABa}	13.7±1.1 ^A
	Saman	7.7±2.07 ^{Ba}	10±1 ^{ABa}	10±2 ^{ABa}	13±1.7 ^A
	Sari	9.3±2.9 ^{Ba}	11±1 ^{Ba}	11.7±2.1 ^{ABa}	15.7±3.1 ^A
Fresh weight	Will	76±4.4 ^{Abc}	73.7±3.1 ^{Ab}	75.7±4.5 ^{Ab}	77.7±2.5 ^A
	Amir	87.7±3.7 ^{Ba}	98.3±12.6 ^{Ba}	91.7±7.6 ^{Ba}	126±11.5 ^A
	Katol	67±11.4 ^{Bc}	74.3±8.5 ^{Bb}	78.3±5.6 ^{Bab}	137.3±3.1 ^A
	Saman	89±3.6 ^{Ba}	88.3±3 ^{Bab}	78.7±10.5 ^{Bab}	103±6.2 ^A
	Sari	80.3±3.2 ^{Bab}	74±10.8 ^{Bb}	85.7±7.1 ^{Bab}	121.6±10.1 ^A
Dry weight	Will	49±2 ^{Aa}	51±1.7 ^{Aa}	54.3±9.3 ^{Aa}	57.7±2.1 ^A
	Amir	42±7.9 ^{Ba}	67±26.9 ^{ABa}	64.3±15.04 ^{ABa}	79±8.5 ^A
	Katol	46±26.9 ^{Ba}	52.3±9.7 ^{ABa}	67.3±3.2 ^{ABa}	92±6.2 ^A
	Saman	65.7±6.1 ^{Aa}	66.3±8 ^{Aa}	63.3±8.3 ^{Aa}	75.3±4.5 ^A
	Sari	50±8.6 ^{Ba}	54.7±9.6 ^{Ba}	61.7±16.04 ^{Ba}	77±5.5 ^A

حروف بزرگ مقایسه به صورت افقی و حروف کوچک مقایسه به صورت عمودی است.

حروف مشترک به معنی عدم تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد.

Capital letters indicated to the horizontally comparisons and small letters indicated to the vertically comparisons

Means with the same letters are not significantly different by the least significant difference test (P < 0.05).

با توجه به وجود شدت‌های مختلف آلودگی به TSV در همه ارقام سویای مورد بررسی، در این پژوهش مقاومت قابل توجهی در بین ارقام در برابر نژادهای TSV مورد بررسی، مشاهده نشد. براساس نتایج پژوهش Ross (1986) علیرغم

خسارت زیاد TSV در مزارع سویا، هیچ رقم مقاومی مشاهده نشده است. همچنین Almeida *et al.* (1994) که مقاومت ۸۰۰ ژنوتیپ سویا به TSV را به روش مکانیکی و در گلخانه بررسی نمود، هیچ رقم مقاومی یافت نشد و همه ژنوتیپ‌ها

آلودگی به TSV را نشان دادند. وانگ و همکاران در سال ۲۰۰۵ مقاومت ۵۲ رقم و لاین سویا را نسبت به TSV بررسی نمودند که بر اساس نتایج آنها تنها یک رقم (Tanner) مقاومت به TSV را نشان داد (Wang et al., 2005). پژوهش صورت گرفته توسط Hobbs et al. (2012) روی ۹۶ ژنوتیپ مختلف سویا به TSV در شرایط گلخانه نیز نتایج محققین قبلی تایید شد و تنها رقم Tanner مقاوم به TSV معرفی شد. این محققین در ادامه اثر دما بر شیوع و گسترش TSV را بر ارقام سویا در گلخانه بررسی کردند. نتایج نشان داد افزایش دما می‌تواند سبب افزایش آلودگی ارقام سویا گردد. تأثیر تغییر شرایط محیطی مرتبط با تغییر فصل و محیط کاشت سویا در افزایش وقوع و شدت بیماریزایی TSV و همچنین تأثیر این عوامل در بروز نژادهای نو ظهور با توان بیماریزایی بالای TSV در سویاکاری‌های کشورهای آمریکا و کانادا در گذشته گزارش شده است (Irizarry et al., 2016).

مقاومت در تعدادی از ارقام آفتابگردان و بادام زمینی نسبت به TSV، مشاهده شده است (Sharman et al., 2016; Kalyani et al., 2007). با توجه به اینکه براساس نتایج محققین تاکنون به جز رقم Tanner، رقم مقاومی در سویا نسبت به TSV دیده نشده است، به نظر می‌رسد که علاوه بر خصوصیات ارقام میزبان، جدایه‌های ویروسی نیز در بروز و نوع علائم ایجاد شده موثر باشند و احتمالاً به همین دلیل جدایه سویا دارای تأثیر بیشتری بر بوته‌های سویا بود. به رغم عدم وجود تفاوت معنی‌دار در OD و تکثیر مشابه ویروس در بیشتر ارقام مورد بررسی، احتمالاً تنوع ژنتیکی و مکانیسم‌های دفاعی ارقام سبب گردیده تا برخی ارقام آلودگی را بیشتر تحمل نموده و افزایش شاخص‌های رشدی بیشتری نشان دهند. براساس پژوهش Randey and Somssich (2009) سازش با عوامل تنش زا در گیاهان نیازمند درجه بالایی از تغییرپذیری فنوتیپی است که این پدیده تحت تأثیر ژنوتیپ گیاهی می‌باشد. گیاهان با به کار بردن مکانیسم دفاعی خاص، دریافت سیگنال‌ها از اطراف و تلفیق بیان ژن‌های مختلف به تنش‌های مختلف پاسخ

می‌دهند. هنوز به درستی مشخص نیست که گیاهان چگونه پاسخ مناسبی را در هر زمان نشان می‌دهند اما واضح است که بسیاری از پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی به وسیله بیان ژن‌های خاص ایجاد می‌شود.

از نتایج این تحقیق چنین برمی‌آید که خصوصیات ژنتیکی و استراتژی رشد و نمو در رقم ویلیامز به جهت زود رس بودن و نامحدود بودن تیپ رشد در مقایسه با رقم متوسط رس امیر (با رشد نیمه محدود)، و ارقام دیررس کتول، سامان و ساری سبب حساسیت کمتر این رقم به تنش‌ها، و در نتیجه واکنش بهتر در برابر عوامل بیماریزا از قبیل TSV و پدیده اختلال در غلاف بندی می‌شود. بنابراین انتخاب و استفاده بیشتر از این قبیل ارقام جهت حصول نتیجه بهتر ضروری به نظر می‌رسد. البته لازم است جهت تصمیم‌گیری‌های دقیق‌تر، واکنش این ارقام در شرایط طبیعی و در مزرعه بررسی گردد. علیهذا باید به این نکته توجه نمود که اثرات متقابل ویروس‌های آلوده کننده سویا با TSV در شرایط مزرعه می‌تواند سبب افزایش شدت علائم و مرگ بوته‌ها شود که باید در این خصوص از راهکارهای مناسب بهره برد. همچنین اثر آفات مکنده به‌عنوان ناقلین فعال ویروس‌ها نباید نادیده گرفته شود. از سوی دیگر شناسایی ژن‌های مهاجم ویروس، ژن‌های مسئول مقاومت گیاه و همچنین شناسایی ژن‌های موثر در عارضه اختلال می‌تواند گامی مهم جهت شناسایی ارقام مقاوم و حل عارضه فوق باشد.

References

- AGRIOS, G. N. 2005. Plant pathology, 5th ed. Elsevier Academic Press, San Diego, 105 p.
- AHMED, W., T. B. BUTT, J. IHSAN and A. REHMAN, 2003. Natural occurrence of Tobacco Streak Virus in cotton in Pakistan and screening for its resistant sources. Pakistan Journal of Botany, 35: 401-408.
- ALMEIDA, A. M. R., A. BERGAMIN FILHO and L. AMORIM, 1994. Disease progress of soybean bud

- blight and spatial pattern of diseased plants. *Journal of Plant Disease and Protection*, 101: 386-392.
- ALMEIDA, A. M. R., S. J. AKAI, K. HANADA, T. G. OLIVEIRA, B. P. ELINTANI, E. W. KITAJIMA, E. R. SOUTO, T. G. NOVAES and P. S. NORA, 2005. Biological and molecular characterization of an isolate of *Tobacco Streak Virus* obtained from soybeans in Brazil. *Fitopatologia Brasileira*, 30: 366-373.
- ARUN KUMAR, N., M. LAKSHMINARASU, U. B. ZEHR and K. S. RAVI, 2006. Natural occurrence and distribution of Tobacco streak virus in south India. *Indian Journal of Plant Protection*, 34: 54-58.
- ARUN KUMAR, N., M. LAKSHMINARASU, U. B. ZEHR and K. S. RAVI, 2008. Molecular characterization of Tobacco streak virus causing soybean necrosis in India. *Indian Journal of Biotechnology*, 7: 214-217.
- AZIZI, A. and M. SHAMSBAKHSH, 2014. Impact of cucumber mosaic virus infection on the varietal traits of common bean cultivars in Iran. *Virus Diseases*, 25: 447-454
- BHASKARA REDDY, B. V., Y. SIVAPRASAD, C. V. M. NARESH KUMAR, A. SUJITHA, K. RAJA REDDY and DV. SAI GOPAL, 2012. First Report of *Tobacco Streak Virus* infecting kenaf (*Hibiscus cannabinus*) in India. *Indian Journal of Virology*, 23(1): 80-82.
- BHAT, A. I., R. K. JAIN and M. RAMIAH, 2002a. Detection of *Tobacco Streak Virus* from sunflower and other crops by reverse transcription polymerase chain reaction. *Indian Phytopathology*, 55: 216-218.
- BHAT, A. I., R. K. JAIN, A. VERMA and S. K. LAL, 2002b. Nucleocapsid protein gene sequence studies suggest that soybean bud blight is caused by a strain of Groundnut bud necrosis virus. *Current Science*, 82: 1389-1392.
- CHERAGHALI, A. 1990. Final reports of the comprehensive project on Podding Disorder of Soybean. Agricultural and Natural Resources Research Center of Golestan (In Persian).
- CLARK, M. F. and S. A. N. ADAMS, 1977. Characteristics of micro plates method of enzyme-linked-immunosorbent assay for detection of plant viruses. *Journal of General Virology*, 34: 475-483.
- COSTA, A. S. and A. M. B. CARVALHO, 1961. Studies on Brazilian *Tobacco Streak Virus*. *Phytopathology. Zeitsch*, 42: 113-138
- GHANEKAR, A. M. and F. W. SCHWENK, 1974. Seed transmission of Tobacco streak virus in six cultivars of soybeans. *Phytopathology*, 64:112-114.
- GOLNARAGHI, A. R., N. SHAHRAEEN, R. POURRAHIM, S. FARZADFAR and A. GHASEMI, 2004. Occurrence and relative incidence of viruses infecting soybeans in Iran. *Plant Disease*, 88: 1069-1074.
- HILL, C. B., C. R. BOWEN and G. L. HARTMAN, 2013. Effect of fungicide application and cultivar on soybean green stem disorder. *Plant Disease*, 97: 1212-1220.
- HILL, C. B., G. L. HARTMAN, R. ESGAR and H. A. HOBBS, 2006. Field evaluation of green stem disorder in soybean cultivars. *Crop Science*, 46: 879-885.
- HOBBS, H. A., C. B. HILL, C. R. GRAU, N. C. KOVAL, Y. WANG, L. PEDERSEN, L. L. DOMIER and G. L. HARTMAN, 2006. Green stem disorder of soybean. *Plant Disease*, 90: 513-518.
- HOBBS, H. A., S. JOSSEY, Y. WANG, G. L. HARTMAN and L. L. DOMIE, 2012. Diverse soybean accessions identified with temperature-sensitive resistance to *Tobacco Streak Virus*. *Crop Science*, 52: 738-744.
- HOSSEINI, S., M. KOOHI HABIBI, G. MOSAHEBI, M. MOTAMEDI and S. WINTER, 2012. First report on the occurrence of *Tobacco Streak Virus* in sunflower in Iran. *Journal of Plant Pathology*, 94: 585-589.
- IRIZARRY, M. D., C. L. GROVES, M. G. ELMORE, C. A. BRADLEY, R. DASGUPTA, T. L. GERMAN, D. J. JARDINE, E. S. SAALAU ROJAS, D. L. SMITH A. U. TENUTA, S. A. WHITHAM and D. S. MUELLER, 2016. Re-emergence of Tobacco streak virus infecting soybean in the United States and Canada. *Plant Health Progress*, 17: 92-94.
- JAGTAP, G. P., T. H. JADHAV and D. UTPAL, 2012. Occurrence, distribution and survey of *Tobacco Streak Virus* (TSV) of cotton. *Scientific Journal of Crop Science*, 1: 16-19.
- JAIN, R. K., S. BAG and L. P. AWASTHI, 2005. First report of natural infection of *Capsicum annum* by Tobacco

- streak virus in India. *Plant Pathology*, 54: 257.
- KAISER, W. J., S. D. WYATT and G. R. PESHO, 1982. Natural hosts and vectors of *Tobacco Streak Virus* in Eastern Washington. *Phytopathology*, 72: 1508-1512.
- KALYANI, G., A. S. REDDY, P. L. KUMAR, D. V. J. P. RAO, R. ARUNA, F. WALIYAR and S. NIGAM, 2007. Sources of resistance to *Tobacco Streak Virus* in wild *Arachis* (Fabaceae: Papilionoidae) germplasm. *Plant Diseases*, 91:1585-1590.
- KAZINCZI, G., D. LUKAS, A. TAKACS, J. HORVATH, R. GABORJANYI, M. NADASY and E. NADASY, 2006. Biological decline of *Solanum nigrum* due to virus infections. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 20: 325-330.
- KOLLMANN, J., M. J. BANUELOS and S. L. NIELSEN, 2007. Effects of virus infection on growth of the invasive alien *Impatiens glandulifera*. *Preslia*, 79: 33-44.
- KUMAR, P. L., T. K. S. LATHA, N. K. KULKARNI, K. RAGHAVENDRA, K. B. SAXENA, F. WALIYAR, K. T. RANGASWAMY, V. MUNIYAPPA, S. DORISWAY and A. T. JONES, 2005. Broad-based resistance to pigeonpea sterility mosaic disease in wild relatives of pigeonpea (Cajanus: Phaseoleae). *Annals of Applied Biology*, 146: 371-379.
- POORTER, H. and R. DE JONG, 1999. A comparison of specific leaf area, chemical composition and leaf construction costs of field plants from 15 habitats differing in productivity. *New Phytologist*, 143: 163-176.
- PRASAD RAO, R. D. V. J., A. S. REDDY, R. S. CHANDER, K. S. VARAPRASAD and D. K. THIRUMALA, 2000. *Tobacco Streak Ilarvirus* as causal agent of sunflower necrosis disease in India. *Journal of Oilseeds Research*, 17: 400-401.
- PRASAD RAO, R. D. V. J., A. S. REDDY, S. V. REDDY, K. THIRUMALADEVI, S. CHANDER RAO, V. MANOJ KUMAR, K. SUBRAMANYAM, T. YELLAMANDA REDDY, S. N. NIGAM and D. V. R. REDDY, 2003. The host range of Tobacco streak virus in India and transmission by thrips. *Annals of Applied Biology*, 142: 365-368.
- RABEDEAUX, P. F., J. M. GASKA, N. C. KURTZWEIL and C. R. GRAU, 2005. Seasonal progression and agronomic impact of *Tobacco Streak Virus* on soybean in Wisconsin. *Plant Diseases*, 89: 391-396.
- RAHIMIAN, H., A. HAMDOLAHZADEH and M. MONTAZERI, 1996. Study of implication of prokaryote, viroous and viroid organisms in Soybean podding disorder. The 12th Iranian Plant Pathology Congress (In Persian).
- RANDEY, S. P. and I. E. SOMSSICH, 2009. The role of WRKY transcription factors in plant immunity. *Plant Physiology*, 150: 1648-1655.
- RAVI, K. S., A. BUTTEGEREITT, A. S. KITKARU, S. DESHMUKH, D. E. LESEMANN and S. WINTER, 2001. Sunflower necrosis disease from India is caused by an Ilarvirus related to *Tobacco Streak Virus*. *Plant Pathology*, 50: 800.
- REDDY, A. S., L. J. REDDY, N. MALLIKARJUNA, M. D. ABDURAHMAN, Y. V. REDDY, P. J. BRAMEL, and V. D. R. REDDY, 2000. Identification of resistance to Peanut bud necrosis virus in wild *Arachis* germplasm. *Annals of Applied Biology*, 137:135-139.
- ROSS, J. P. 1986. Registration of four soybean lines resistant to bean pod mottle virus. *Crop Science*, 26:210.
- SHARMAN, M., J. E. THOMAS and D. M. PERSLEY, 2008. First report of *Tobacco Streak Virus* in sunflower (*Helianthus annuus*), cotton (*Gossypium hirsutum*), chickpea (*Cicer arietinum*) and mung bean (*Vigna radiata*) in Australia. *Plant Disease*, 3: 27-29.
- SHARMAN, M., D. E. PAGENDAM, D. M. PARSLEY, A. DRENTH and J. E. THOMAS, 2016. Field evaluation of tolerance to Tobacco streak virus in sunflower germplasm, and observations of seasonal disease spread. *Annals of Applied Biology*, 168: 390-399
- SIVAPRASAD, Y., B. V. BHASKARA REDDY, K. REKHA RANI, K. RAJA REDDY and D. V. R. SAI GOPAL, 2010. First report of *Tobacco Streak Ilarvirus* infecting onion (*Allium cepa*). *New Diseases*, 22: 17.
- VINODKUMAR, S., S. NAKKEERAN, V. G. MALATHI, G. KARTHIKEYAN, P. AMALA BALU, S. MOHANKUMAR and P. RENUKADEVI, 2017.

Tobacco streak virus: an emerging threat to cotton cultivation in India. *Phytoparasitica*, 45: 729-743.
WANG, Y., H. A. HOBBS, C. B. HILL, L. L. DOMIER, G. L. HARTMAN and R. L. NELSON, 2005. Evaluation

of ancestral lines of U.S. soybean cultivars for resistance to four soybean viruses. *Crop Science*, 45: 639-644.