

بررسی تاثیر حضور هم‌زمان ویروس‌های کوتولگی زرد جو و موزائیک رگه‌ای گندم بر عیار ویروس موزائیک رگه‌ای گندم، شدت علائم و برخی اجزاء عملکرد گندم*

Effects of dual infections of Barley yellow dwarf virus (BYDV-PAV) and Wheat streak mosaic virus (WSMV) on WSMV titer, symptom severity and some yield components of wheat

سیده فاطمه روحانی^۱، محسن یاسایی^{۲*} و عباس شرزه‌ای^۳

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۵/۲۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۱/۱۸)

چکیده

وجود منابع فعال ویروس‌های موزائیک رگه‌ای گندم و کوتولگی زرد جو و نیز وقوع آلودگی هم‌زمان آن‌ها در مناطق مختلف گندم‌کاری ایران گزارش شده است. در این تحقیق، اثر انفرادی و ترکیبی متغیرهای فوق بر عیار ویروس، شاخص علائم WSMV و برخی متغیرهای رشدی و عملکردی سه ژنوتیپ گندم بررسی گردیده است. آزمایش حاضر به صورت یک طرح فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی (RCBD) با ۱۵ تکرار انجام شد. متغیرهای آزمایش شامل ترتیب اعمال تیمار ویروسی در شش سطح، ژنوتیپ در سه سطح و زمان پس از آلودگی با WSMV در سه سطح در نظر گرفته شد. اثر انفرادی و ترکیبی متغیرها بر صفات مورد نظر بررسی گردید. نتایج نشان داد که تیمارهای با آلودگی دوگانه بیشترین میزان جذب الیزا و شدت علائم ناشی از WSMV و نیز پایین‌ترین میزان متغیرهای زراعی را دارا بودند. در مقایسه انواع تیمار ویروسی، آلودگی اولیه با WSMV و سپس BYDV در بین ژنوتیپ‌ها، رقم حساس مرودشت، بالاترین میزان جذب الیزا و شاخص علائم برای WSMV را به خود اختصاص دادند. بیشترین میزان جذب الیزا و شاخص علائم به ترتیب در ۲۱ و ۳۵ روز پس از آلوده‌سازی با WSMV مشاهده شد. در برهمکنش ژنوتیپ و تیمار ویروسی، بیشترین میزان جذب الیزا و شاخص علائم به تیمارهای آلودگی اولیه به WSMV و سپس BYDV در رقم‌های مرودشت و رسول اختصاص یافت. در مطالعه برهمکنش سه متغیر، تیمار آلودگی اولیه به WSMV و سپس BYDV در ژنوتیپ‌های مرودشت و رسول، در ۲۱ روز پس از آلوده‌سازی بیشترین میزان جذب را دارا بودند. تمامی تیمارهای آلودگی دوگانه منجر به کاهش محسوس ارتفاع، عملکرد دانه و وزن اندام هوایی شدند. در این بین پایین‌ترین میزان شاخص‌های فوق به تیمار آلودگی هم‌زمان دو ویروس تعلق گرفت. در ژنوتیپ مقاوم کراس عدل، بیشترین مقدار جذب الیزا در تیمار آلودگی اولیه با BYDV و سپس WSMV مشاهده شد. این درحالی است که کاهش معنی‌داری در عملکرد محصول در تیمار آلودگی هم‌زمان دو ویروس دیده شد.

کلیدواژه: ویروس موزائیک رگه‌ای گندم، ویروس کوتولگی زرد جو، آلودگی مخلوط

* بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول، ارائه شده به دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد مرودشت

** مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: yassaie@farsagres.ir

۱ - دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مرودشت، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، مرودشت، ایران

۲ - استادیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس

۳ - استادیار پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران

Effects of dual infections of Barley yellow dwarf virus (BYDV-PAV) and Wheat streak mosaic virus (WSMV) on WSMV titer, symptom severity and some yield components of wheat

S. F. ROUHANI¹, M. YASSAIE^{2*} and A. SHARZEI³

(Received: 17.8.2013; Accepted: 31.1.2015)

Abstract

Prevalence of effective sources of *Wheat streak mosaic virus* (WSMV) and *Barley yellow dwarf virus* (BYDV-PAV) and their mixed infections have been reported in several wheat growing regions in Iran. This research, investigates the effect of above mixed infections on viral titer and severity of one of the challenging viruses, WSMV, along with some yield components in three different wheat genotypes. The experiment was conducted in factorial design based on RCBD with 15 replications. Variables were viral treatments (six levels), genotypes (three levels) and the days post infection (DPI, three levels) of WSMV. The main and interactional effects of variables on above features were studied. Results showed that all doubly infections caused higher WSMV symptom scores and virus titer, those were accompanying with lower agronomic features. Among viral treatments, WSMV→BYDV-PAV inoculation and between genotypes, WSMV susceptible cultivar, Marvdasht, showed the maximum ELISA values and symptom scores. The highest viral content and symptom score were evaluated at 21 and 35 days post WSMV inoculation, respectively. Mutual interaction analysis between genotypes and viral treatments revealed the highest ELISA value and symptom score for WSMV→BYDV-PAV in Marvdasht and Rasul cultivars. Three ways interaction analysis of the above factors showed the highest ELISA value and symptom score for WSMV→BYDV-PAV treatment for Marvdasht and Rasul cultivars at 21 DPI. All doubly infections, particularly co-inoculation, resulted in the lower plant height, grain yield and shoot weight, comparing to single infections. For WSMV resistant genotype, Cross Adl, BYDV-PAV→WSMV inoculation was resulted in the higher ELISA value comparing to WSMV single infection, while, significant decrease in grain yield was observed in co-inoculation of two viruses.

Keywords: *Wheat streak mosaic virus*, *Barley yellow dwarf virus*, mixed infection

* Corresponding author's E-mail: yassaie@farsagres.ir

1. Graduated student, Department of Plant Protection, College of Agriculture, Marvdasht Branch, Islamic Azad University, Marvdasht, Iran
2. Assistant Prof., Research Center for Agriculture and Natural Resources of Fars Province
3. Assistant Prof., College of Aburaihan, University of Tehran

مقدمه

ناقل آن در ایران از قدمت قابل توجهی برخوردار بوده، خسارت کمی و کیفی آن در برخی مزارع گندم اطراف شیراز در سال ۱۳۷۹ تا صد در صد محصول گزارش شده است (Massumi & Izadpanah, 2001).

گزارش‌های متعددی از وقوع آلودگی‌های هم‌زمان ویروسی در گیاهان از جمله غلات وجود دارد (Matthews, 1991). در این بین به آلودگی مخلوط ویروس کوتولگی گندم (*Wheat dwarf virus*) با BYDV (Lapierre & Signoret, 2004; Behjatnia et al., 2011) و *High Plains Virus* با WSMV در غرب آمریکا (Mahmood et al., 1998) می‌توان اشاره کرد. آلودگی‌های مخلوط WSMV و BYDV در ایران نیز به تکرار مشاهده شده است. در این بین به آلودگی‌های مخلوط سروتیپ‌های مختلف BYDV با WSMV در مزارع چهارمحال و بختیاری می‌توان اشاره کرد (Sahragard et al., 2010).

به‌طور معمول، گیاهان عالی در معرض آلودگی هم‌زمان به چند ویروس می‌باشند (Pruss et al., 1997). وقوع این پدیده می‌تواند به واکنش‌هایی همچون حفاظت تقاطعی و یا هم‌افزایی منجر می‌شود (Hammond et al., 1999). در هم‌افزایی گیاهی، یک بیمارگر، مقاومت گیاه را با تنظیم منفی پیام‌رسانی مسیرهای مرتبط با دفاع، می‌کاهد (Barrett et al., 2009). اکثر مطالعات هم‌افزایی بر بیماری‌های ناشی از دو ویروس دی‌ان‌ای یا آر‌ان‌ای دار تک‌لا و به‌خصوص اعضاء جنس پوتی‌ویروس متمرکز می‌باشد (Martin & Elena, 2009). بر این اساس هم‌افزایی ویروسی در گیاهان به دو گروه اصلی هم‌افزایی وابسته به پوتی‌ویروس‌ها و مستقل از این گروه ویروسی تقسیم می‌شود (Pruss et al., 1997; Jensen et al., 1996). این پدیده می‌تواند یک جهت‌دهنده و به افزایش یکی از دو

در بین عوامل محدودکننده تولید گندم، بیماری‌های ویروسی از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. از جمله مهم‌ترین و گسترده‌ترین عوامل فوق به ویروس‌های گروه کوتولگی زرد جو و غلات (*Barely and cereal yellow dwarf viruses*, B/CYDV) و ویروس موزائیک رگه‌ای گندم (*Wheat streak mosaic virus*, WSMV) می‌توان اشاره کرد (Afsharifar et al., 2004; Massumi & Izadpanah, 2001).

گروه ویروس‌های کوتولگی زرد جو دارای دامنه میزبانی در بین گیاهان زراعی و غیر زراعی خانواده گرامینه هستند. این ویروس‌ها قادرند تا با تعدادی از شته‌های غلات منتقل شده و گسترش یابند (Agrios, 2004). شدت بیماری به عوامل مختلفی از جمله جداییه ویروس، زمان آلودگی، تعداد حشره ناقل و شرایط محیطی وابسته می‌باشد (Jensen & D'arcy, 1995). این بیماری علائمی همچون زردی و قرمزی، کوتولگی، کاهش پنجه‌زنی، ممانعت از خوشه‌دهی، عقیم ماندن و جلوگیری از پر شدن دانه‌ها را در گیاهان نشان می‌دهد. خسارت بیماری در یولاف بین ۳۰ تا ۵۰ درصد برآورد شده است. این میزان در گندم و جو بین ۵ تا ۳۰ درصد گزارش شده است. به این خسارت، زیان‌های وارد شده به کیفیت بذر و علوفه نیز افزوده می‌شود (Agrios, 2004).

از میان ویروس‌هایی که در گندم تولید موزائیک می‌کنند، ویروس موزائیک رگه‌ای گندم مهم‌ترین و گسترده‌ترین است (Martin, 1978). این ویروس در بیشتر مناطق گندم‌کاری ایران وجود دارد. هرچند خسارت آن در بسیاری از مناطق نامحسوس است، اما در شرایطی توان نابودی کامل گیاهان گندم را دارد. ویروس عامل بیماری و

(Kokkinos & Clark, 2006). همچنین مقاله‌هایی بروز پدیده هم‌افزایی بین اعضا گروه‌های کوتولگی زرد جو و غلات (*Barley and cereal yellow dwarf virus*,) (B/CYDVs) را گزارش می‌نمایند. در این خصوص بروز هم‌افزایی معمولاً بین دو گونه‌ی متفاوت رخ می‌دهد (Miller & Rasochova, 1997; Halstead & Gill, 1971). نتیجه این هم‌افزایی به افزایش میزان انتقال (Seabloom, 2009) و مرگ میزبان در مقایسه با آلودگی-های انفرادی منجر خواهد شد (Zhang et al., 2001). آلوده‌سازی‌های دوگانه می‌تواند به‌صورت هم‌زمان و یا با فاصله زمانی کوتاه از یکدیگر (co-infection) و یا آلودگی با فاصله زمانی بیشتر (super-infection) باشد (Miralles et al., 2001).

به دلیل وجود منابع فعال دو ویروس کوتولگی زرد جو (BYDV-PAV) و موزائیک رگه‌ای گندم در بسیاری از مناطق ایران و امکان وقوع آلودگی هم‌زمان این دو ویروس در شرایط مناسب برای فعالیت ناقلین آن‌ها در غلات دانه‌ریز به‌ویژه گندم، بررسی واکنش میزبان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. از دیگر سو با شناسایی ترادف چارچوب خوانش باز شماره ۶ (ORF6) در ویروس کوتولگی زرد جو (BYDV-PAV) (Liu et al., 2012) در کنار ترادف HC-Pro پوتی‌ویروسی (Merai et al., 2006) که به‌عنوان سرکوب‌کننده‌های سازوکار خاموشی ژن (Suppressors of Gene Silencing, SGS) شناخته شده‌اند، احتمال وقوع اثراتی بر بیماری ناشی از یک آلودگی هم‌زمان متصور است.

در این پژوهش تاثیر انواع آلودگی هم‌زمان دو ویروس یاد شده در سه ژنوتیپ مختلف گندم که واکنش متفاوتی از حساسیت تا مقاومت به این ویروس‌ها را دارند، مورد بررسی قرار گرفته، تاثیر این عوامل بر عیار ویروس

ویروس چالشی منجر شده و یا دو جانبه باشد. در هر دو حالت، پروتئین(های) یک ویروس منجر به افزایش آلودگی دیگری خواهد شد (Latham & Wilson, 2008). در بیشتر این مطالعات عیار غیر پوتی‌ویروس به‌واسطه اثر سرکوبگری HC-Pro بر خاموشی ژن افزایش می‌یابد (Wang et al., 2002; Murphy & Bowen, 2006; Taiwo et al., 2007; Pruss et al., 1997; Jensen et al., 1996). گزارش‌هایی مبنی بر نقش پوتی‌ویروس‌ها در رخداد هم‌افزایی در دست می‌باشد. از آن جمله می‌توان به مطالعات انجس و همکاران در بررسی آلودگی دوگانه پوتی‌ویروس موزائیک سویا (*Soybean mosaic virus*, SMV) و دو کوموویروس در سویا اشاره کرد. گیاهانی که با این ویروس و ویروس موزائیک لویا چشم‌بلیلی (*Cowpea mosaic virus*, CpMV) یا ویروس پیسه‌ای غلاف لویا (*Bean pod mottle virus*, BPMV) آلوده شدند، علائم شدیدتری را در مقایسه با آلودگی انفرادی ایجاد نمودند. همچنین عیار کوموویروس در گیاهان با آلودگی دوگانه از گیاهان دارای با آلودگی انفرادی به‌مراتب بالاتر بود (Anjos et al., 1992). در مطالعه هم‌افزایی یک پوتی‌ویروس و یک کرینوویروس محدود به بافت آبکشی سیب‌زمینی شیرین، نشان داده شد که وقتی این میزبان توسط پوتی‌ویروس (*Sweet potato feathery mottle virus*, SPFMV) یا کرینوویروس (*chlorotic stunt virus*, SPCSV) آلوده می‌شوند، یا علائمی نشان نداده یا علائم خفیفی را در پی داشته است. این در حالی است که در آلودگی دوگانه، علائم شدید برگ‌گی و کوتولگی در گیاهان آلوده مشاهده می‌شود (Karyeija et al., 2000).

گزارش‌هایی نیز مبنی بر عدم رخداد بیماری هم‌افزا و یا حتی کاهش تجمع ویروس همراه در دست می‌باشد

موزائیک رگه‌ای گندم، نوع و شدت علائم و نیز برخی از اجزاء عملکرد گندم مطالعه شده است.

مواد و روش‌های بررسی

منبع همسانه شته

شته برگ یولاف (*Rhopalosiphum padi*, L.) از منطقه دشتک کامفیروز (فارس) از روی بوته‌های گندم و جو جمع‌آوری شد. همسانه‌سازی شته یاد شده با انجام خالص‌سازی بیولوژیکی از طریق جابجایی مکرر و متوالی پوره‌های سن دو و سه بر روی گیاهچه‌های سالم جو نصرت و یا یولاف حساس به BYDV-PAV انجام شد. این عمل با پنج تا شش بار تک‌همسانه نمودن شته و قرار دادن آنها بر روی میزبان سالم صورت پذیرفت. بدین ترتیب ضمن تأمین خلوص بیولوژیکی شته یاد شده، احتمال آلودگی آنها به سایر عوامل ویروسی به حداقل رسید. همچنین به منظور حصول اطمینان از عدم آلودگی همسانه‌ی نهایی شته، سالم بودن نمونه برگ‌ی آخرین مرحله از انتقال، با آزمون الیزا به تایید رسیده و به‌عنوان شته منبع عاری از ویروس استفاده شد. با تغذیه همسانه‌ی شته یاد شده از منبع ویروس، شته‌های حامل ویروس جهت انجام مایه‌زنی‌های بعدی به‌دست آمد.

منبع ویروس

ویروس کوتولگی زرد جو

منبع ویروس کوتولگی زرد جو (BYDV-PAV) از منطقه دشتک کامفیروز (فارس) تهیه شد. بدین‌منظور بوته‌های جو دارای علائم زردی و یا کوتولگی جمع‌آوری و با ریشه به گلدان منتقل شدند. آلودگی بوته‌های فوق به BYDV-PAV با آزمون سرولوژیکی الیزا و با استفاده از

گاماگلوبین تهیه شده علیه BYDV-PAV (Bioreba) به روش کلارک و بارجوزف (Clark & Bar-Joseph, 1984) به تایید رسید. همچنین عدم آلودگی آنها به سایر سروتیپ‌های ویروس‌های کوتولگی زرد جو و غلات با این روش تعیین شد. بوته‌هایی که تنها به BYDV-PAV آلوده بودند به عنوان منبع ویروس انتخاب شدند. بدین منظور پوره‌های سن ۳-۲ منبع شته سالم به مدت ۷۲ ساعت بر روی بوته‌های فوق قرار داده و سپس به گیاهچه‌های سالم یولاف حساس (رقم Mitika) منتقل شدند. آلودگی بوته‌های یولاف با آزمون الیزا بررسی شد. بوته‌ها و شته‌های تکثیر شده بر روی آنها که آلودگی انفرادی به BYDV-PAV را داشتند، به‌عنوان منبع نهایی ویروس مورد استفاده قرار گرفت. شته‌های یاد شده به فواصل ۱۴-۱۰ روز یک‌بار به‌منظور تکثیر زادمایه‌ی ویروس تحت شرایط مجزا بر روی بوته‌های یولاف حساس منتقل شدند. از شته‌های حامل ویروس به‌عنوان زادمایه آزمایش استفاده شد. بدین منظور تعداد ۱۵-۱۰ پوره سن دو تا سه بر روی هر بوته در مرحله دو تا سه برگ‌ی قرار داده شد. از استقرار تعداد شته لازم مستقر شده پس از چهار ساعت اطمینان حاصل و در صورت عدم استقرار مناسب، شته‌گذاری مجدد انجام گرفت. هفتاد و دو ساعت پس از شته‌گذاری، شته‌ها با استفاده از حشره‌کش کنفیدور (۱/۱۰۰۰ حجم/حجم) حذف شدند.

ویروس موزائیک رگه‌ای گندم

از جدایه مرودشت ویروس موزائیک رگه‌ای گندم استفاده شد. بدین‌منظور منبع ویروس از بوته‌های گندمی که علائمی شامل خطوط و رگه‌های سبزرده داشتند، تأمین شد. تأیید آلودگی منبع فوق به WSMV با استفاده از آزمون‌های سرولوژیکی نشت دو طرفه در ژل آگار و یا

متغیر تیمارهای ویروسی

این متغیر در شش سطح به شرح زیر در نظر گرفته شد: BW، آلوده‌سازی اولیه با BYDV و یک هفته بعد با WSMV
B+W، آلوده‌سازی هم‌زمان دو ویروس
WB، آلوده‌سازی اولیه با WSMV و یک هفته بعد با BYDV
همچنین تیمارهای زیر به‌عنوان شاهد آزمایش در قالب متغیر نوع آلوده‌سازی در نظر گرفته شد:
W، آلوده‌سازی انفرادی با WSMV
B، آلوده‌سازی انفرادی با BYDV
H، شاهد سالم

متغیر ژنوتیپ

این متغیر در سه سطح در نظر گرفته شد. بدین منظور از سه ژنوتیپ گندم نان شامل مرودشت، رسول و کراس عدل استفاده شد. رقم مرودشت نسبت به هر دو ویروس حساس است. رسول به BYDV متحمل و کراس عدل به جدایه مرودشت WSMV مقاوم می‌باشد (Yassaie et al., 2002, Afsharifar et al., 2004) و اطلاعات منتشر نشده نویسنده دوم). بدین ترتیب تنوع لازم در واکنش نسبت به ویروس‌های چالشی تامین شد. اجزای این تیمار با نشانه‌های M، R، CA به‌ترتیب برای ژنوتیپ‌های مرودشت، رسول و کراس عدل مشخص شدند.

متغیر زمان پس از آلوده‌سازی با WSMV

این متغیر در سه مقطع هفت، ۱۴ و ۲۱ روز پس از آلوده‌سازی با WSMV برای آزمون الیزا در نظر گرفته شد. علاوه بر آن، بررسی علائم در ۲۸ و ۳۵ روز پس از

الیزا صورت گرفت. پس از عصاره‌گیری از منبع فوق، ویروس به‌صورت مکانیکی به گندم رقم مرودشت (حساس) منتقل و تکثیر شد. زادمایه WSMV با عصاره‌گیری از منبع فوق در بافر فسفات ۰/۰۵ مولار، ۷ pH به نسبت ۱/۳ (حجم/ وزن) تهیه و مالش عصاره به برگ‌های گندم در مرحله دو تا سه برگی و پس از پوشش با پودر کاربراندوم انجام گرفت. آزمایش در شرایط گلخانه (۲۵ درجه سلسیوس، ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی) انجام گردید.

خالص‌سازی بیولوژیکی WSMV، با انجام چندین مایه‌زنی مکانیکی متوالی (حداقل ده بار) با استفاده از تک برگ دارای علائم بر روی گندم حساس رقم مرودشت انجام شد. همچنین عدم آلودگی این زادمایه به تنها عامل ویروسی مشابه در منطقه، ویروس موزائیک اقلید گندم (Massumi & Izadpanah, 2002)، با انجام آزمون سرولوژیکی تایید گردید. از این مایه به‌عنوان منبع WSMV برای مراحل مختلف این پژوهش استفاده شد.

اجزای آزمایش

آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب یک طرح بلوک کامل تصادفی (RCBD) با ۱۵ تکرار انجام شد. متغیرهای آزمایش شامل تیمار ویروسی در شش سطح، ژنوتیپ در سه سطح و زمان پس از آلوده‌سازی با WSMV در سه سطح در نظر گرفته شد. آزمایش در شرایط گلخانه (۲۵ درجه سلسیوس، ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی) انجام گردید. این شرایط برای تکثیر هر دو ویروس WSMV و BYDV-PAV مناسب می‌باشد. مایه‌زنی‌های اولیه و ثانویه به‌منظور اعمال تیمارهای ویروسی، به‌ترتیب در مرحله دو تا سه برگی (حدود هشت روز پس از کاشت بذر) و سه تا چهار برگی انجام شد.

آلودگی به WSMV نیز انجام گرفت.

صرفاً بوته‌های دارای آلودگی دوگانه مورد بررسی قرار گرفتند.

روش اجرای آزمایش

داده‌های آزمون الیزا به منظور قابلیت مقایسه بین پلیت‌های مختلف الیزا با استفاده از رابطه (۱) نرمال شدند. در این رابطه \bar{X} میانگین جذب چاهک‌های هر نمونه، X_{\max} میانگین جذب چاهک‌های گندم آلوده رقم مرو دشت و X_{\min} میانگین جذب گندم سالم هر رقم در نظر گرفته شد (Wright et al., 1993).

برای هر تیمار، از هر ژنوتیپ ۳۰ بذر کاشته شد. پس از دو برگی شدن بوته‌ها و در زمان آلوده‌سازی، ۱۵ عدد بوته‌ی یکسان برای هر تیمار انتخاب و سایر بوته‌ها حذف شدند.

یادداشت‌برداری

علائم شناسی

بررسی علائم و یادداشت‌برداری از علائم بیماری موزائیک رگه‌ای گندم، یک هفته بعد از آخرین آلوده‌سازی بر اساس شاخص‌های آلودگی ۰-۷ توصیف شده توسط معصومی و همکاران (Massumi et al. 2001) انجام گرفت. این یادداشت‌برداری از آخرین برگ کاملاً باز هر بوته و به صورت هفتگی انجام شد.

شاخص‌های زراعی و عملکردی

بوته‌های هر تیمار تا رسیدگی کامل سنبله‌ها نگهداری و شاخص‌های ارتفاع بوته، وزن خشک اندام هوایی و عملکرد دانه اندازه‌گیری شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری نتایج بدست آمده با استفاده از بسته‌ی آماری SAS 9.1.3 انجام گرفت (SAS Institute, 2005). مقایسه میانگین‌ها برای اعداد جذب الیزا و شاخص علائم WSMV و شاخص‌های زراعی با آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام و اختلاف بین تیمارها بررسی شد. در این بررسی اثر هر یک از متغیرها به تنهایی، اثر متقابل دو به دو متغیرها و نیز اثر متقابل هر سه متغیر بررسی شدند. در نهایت، ارزیابی تاثیر آلودگی به دو ویروس در سه ژنوتیپ که واکنش‌های متفاوتی نسبت به ویروس موزائیک رگه‌ای گندم را نشان می‌دادند، بر علائم و عیار این ویروس و نیز شاخص‌های زراعی آنها به عمل آمد.

آزمون الیزا

آزمون الیزا برای WSMV و BYDV به صورت غیرمستقیم مطابق روش کلارک و بار جوزف (Clark & Bar-Joseph, 1984) با انجام اصلاحاتی انجام شد. میانگین جذب چاهک‌های هر نمونه با رابطه $\bar{X} + 3SD$ (Sbihi et al. 2001) مقایسه و نمونه‌هایی که جذب بزرگتر و یا مساوی عدد حاصل را داشتند، مثبت در نظر گرفته شدند. در این رابطه \bar{X} و SD به ترتیب میانگین و انحراف معیار جذب چاهک‌های گندم سالم می‌باشند. بوته‌هایی که حضور BYDV در آنها در اولین آزمون الیزا (هفت روز پس از آلوده‌سازی با BYDV) با رابطه‌ی یاد شده اثبات نشد (عدم آلودگی)، از آزمایش حذف شده،

جدول ۱. جدول تجزیه واریانس داده‌های مربوط به صفات مورد بررسی

Table 1. Analysis of variance for studied traits

مجموع مربعات					پ متغیرها
متوسط وزن اندام هوایی	متوسط عملکرد محصول	ارتفاع	علائم	جذب الیزا	variable
Mean shoot weight	Mean grain yield	Height (cm)	symptom score	ELISA value	
51.44*	11.66*	27445.61*	4.2*	5.59*	تیمار ویروسی viral treatment
18.51*	1.12*	2249.04*	517.7*	4.95*	رقم genotype
—	—	—	394.2*	2.02*	زمان time
121.05*	20.11*	55027.65*	6.47*	2.46*	تیمار ویروسی × رقم viral treatment × genotype
—	—	—	87.9*	0.50*	زمان × رقم time × genotype
—	—	—	27.7*	3.18*	تیمار ویروسی × زمان viral treatment × time
—	—	—	25.59*	1.97*	تیمار ویروسی × رقم × زمان viral treatment × genotype × time
98.76	12.85	25956.05	319.1	12.93	اشتباه error
219.82	32.96	80983.71	2230.4	51.95	کل total

*significant at the 0.05 level

*معنی‌دار در سطح ۰/۰۵

نسبت به شاهد فوق را نشان می‌دهد.

$$x = \frac{(a - b)}{a} \times 100 \quad (۳)$$

برای تعیین درصد تغییرات در شاخص‌های زراعی و عملکردی نیز، از رابطه (۳) استفاده شد. در این رابطه a میزان شاخص در تیمار مورد نظر و b میزان شاخص در شاهد سالم و یا آلودگی انفرادی با WSMV می‌باشد. x درصد افزایش یا کاهش شاخص مورد نظر نسبت به شاهد را نشان می‌دهد.

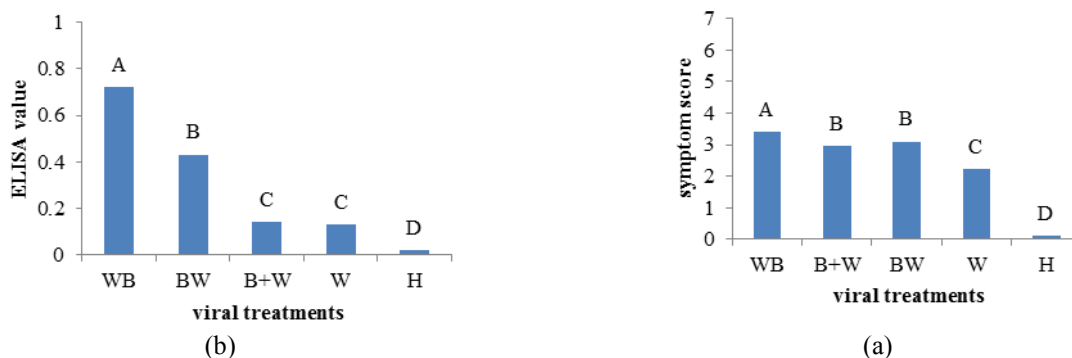
نتایج

جدول ۱ تجزیه واریانس داده‌های مربوط به جذب الیزا، شاخص‌های علائم و زراعی را نشان می‌دهد.

به دلیل عدم پیوستگی اعداد شاخص علائم، عدد ۱۰۰ بر هفت (تعداد فواصل بین شاخص صفر و هفت) تقسیم و سهم درصد هر قسمت معادل ۱۴/۲۹ بدست آمد. سپس از رابطه ۲، درصد افزایش یا کاهش علائم نسبت به تیمارهای آلودگی انفرادی و شاهد سالم بدست آمد. در این رابطه، a شاخص علائم در تیمار مورد نظر و b شاخص علائم در شاهد سالم و یا آلودگی انفرادی با WSMV است.

$$x = (a - b) \times 14.29 \quad (۲)$$

برای تعیین درصد تغییرات در جذب الیزا، از رابطه (۳) استفاده شد، در این رابطه، a میزان جذب الیزا در تیمار مورد نظر و b میزان جذب الیزا در شاهد آلودگی انفرادی WSMV می‌باشد. x درصد افزایش یا کاهش جذب الیزا



شکل ۱- نوسانات شاخص علائم (a) و میزان جذب الیزا (b)، در انواع تیمارهای ویروسی (حروف غیر مشترک روی ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین دو تیمار در سطح ۵٪ است).

Fig 1- Symptom scores (a) and ELISA values (b) in different viral treatments (different letters indicate significant differences at the 5% level).

اثر تیمارهای ویروسی

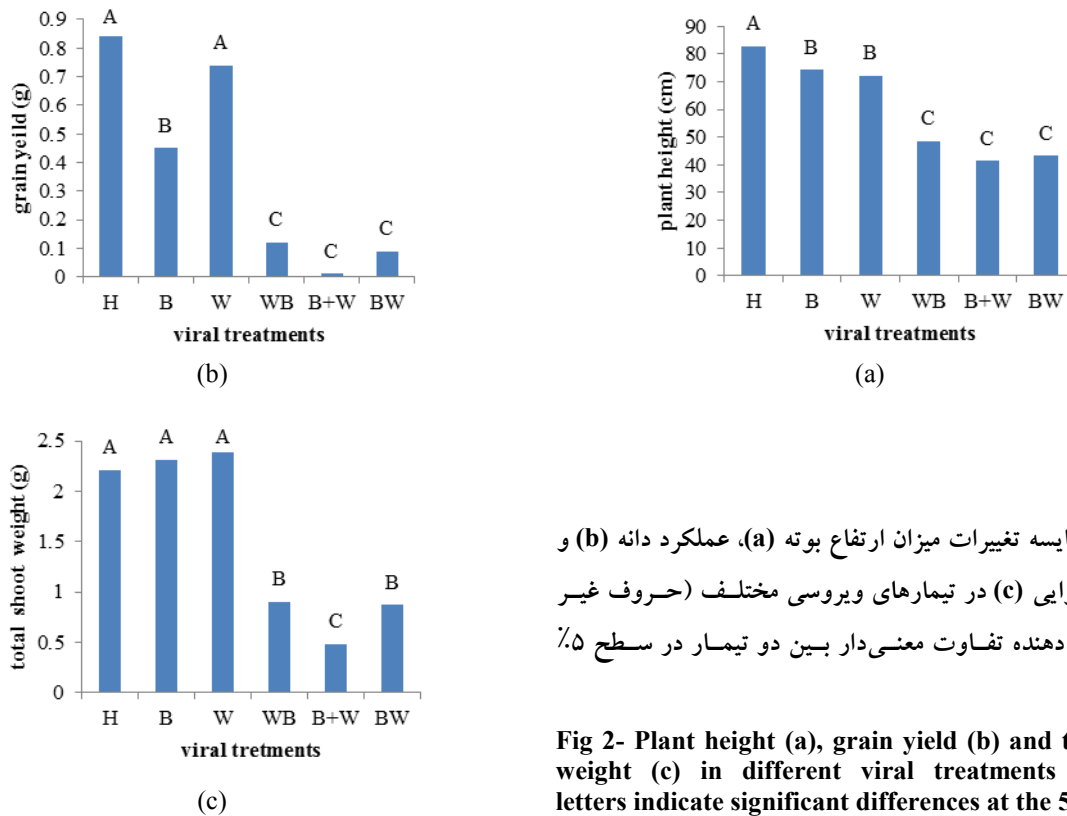
اثر تیمارهای ویروسی بر علائم و میزان جذب الیزا برای WSMV

اثر تیمارهای ویروسی بر شاخص علائم WSMV در شکل 1a نشان داده شده است. بیشترین شاخص علائم با متوسط ۳/۵ به تیمار آلودگی WSMV و سپس BYDV تعلق گرفت. این میزان شاخص از افزایشی معادل ۱۶/۸۶ درصد نسبت به آلودگی انفرادی با WSMV برخوردار است. این در حالی است که تیمارهای BW و B+W ضمن عدم تفاوت معنی‌دار بین خود، در مقام دوم قرار گرفتند. تیمار آلودگی انفرادی با WSMV (W) با میانگین ۲/۲، علائم کمتری را در مقایسه با تیمارهای آلودگی دوگانه نشان داد. چنانچه در شکل 1b ملاحظه می‌شود، تیمارهای مختلف ویروسی اثرات متفاوتی را بر میزان جذب الیزای WSMV داشته‌اند. تیمار آلودگی WSMV و سپس BYDV (WB) نیز بالاترین میزان جذب در آزمون الیزا را به خود اختصاص داده است. این میزان جذب، از افزایشی معادل ۴۵۳/۸ درصد نسبت به آلودگی انفرادی با WSMV برخوردار است. به دنبال آن تیمار آلودگی اولیه با BYDV

و سپس WSMV (BW) قرار داشته که معادل ۲۳۰/۷ درصد نسبت به آلودگی انفرادی با WSMV افزایش نشان می‌دهد. تیمارهای ویروسی هم‌زمان به دو ویروس (B+W) و آلودگی انفرادی با WSMV (W) ضمن نداشتن اختلاف با یکدیگر در مقام سوم قرار گرفتند.

اثر تیمارهای ویروسی بر شاخص‌های زراعی و عملکردی

چنانچه در شکل 2a مشاهده می‌شود، تیمار H (شاهد سالم)، با دارا بودن بیشترین ارتفاع و با اختلاف معنی‌دار نسبت به سایر تیمارها در مکان نخست قرار دارد. تیمارهای مختلف ویروسی به‌نوبت خود منجر به بروز کاهش ارتفاع شده‌اند. بر این اساس تیمارهای آلودگی انفرادی با BYDV (B) و آلودگی انفرادی با WSMV (W) بدون وجود اختلاف معنی‌دار بین خود، منجر به کاهش نسبی ارتفاع بوته شده و در مرتبه بعدی قرار گرفتند. تمامی تیمارهای ویروسی دوگانه، اثر کاهشی قابل ملاحظه‌ای را با اختلاف معنی‌دار نسبت به تیمارهای ویروسی انفرادی در پی داشتند. در این بین بیشترین میزان کاهش ارتفاع به تیمار B+W (آلودگی هم‌زمان دو



شکل ۲- مقایسه تغییرات میزان ارتفاع بوته (a)، عملکرد دانه (b) و وزن اندام هوایی (c) در تیمارهای ویروسی مختلف (حروف غیر مشترک نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین دو تیمار در سطح ۵٪ است).

Fig 2- Plant height (a), grain yield (b) and total shoot weight (c) in different viral treatments (different letters indicate significant differences at the 5% level).

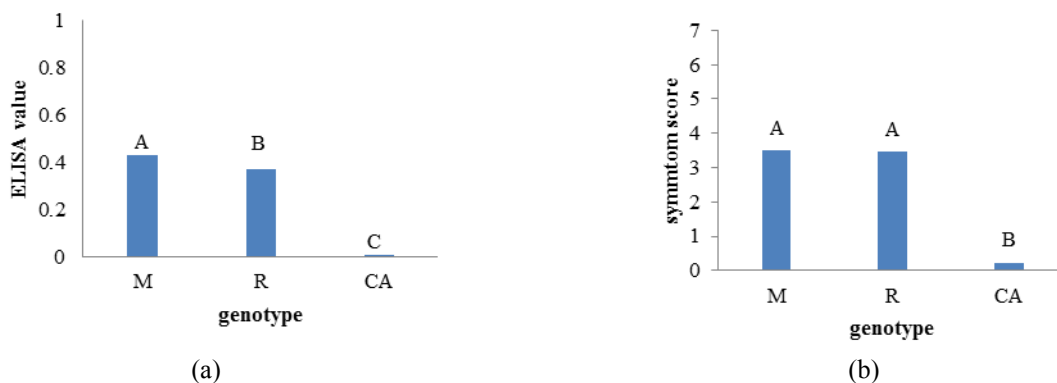
وزن اندام هوایی در تیمار H با تیمارهای آلودگی انفرادی (B و W) اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. این در حالی است که تیمارهای با آلودگی دوگانه کاهش معنی‌داری را برای این صفت نسبت به سایر تیمارها نشان دادند. کمترین وزن بوته به تیمار B+W تعلق گرفت. این تیمار در مقایسه با سایر تیمارهای آلودگی دوگانه از اختلاف معنی‌دار برخوردار بود و کاهش معادل ۷۹/۸ درصد را نسبت به آلودگی انفرادی با WSMV نشان داد (شکل ۲c).

اثر تیمار ژنوتیپ بر علائم و میزان جذب الیزا برای WSMV

آلودگی به بیماری موزائیک رگه‌ای گندم، در ژنوتیپ‌های مختلف منجر به بروز دامنه‌ای از شدت علائم گردید (شکل ۳a). بر این اساس رقم‌های مرودشت (M) و رسول (R) به ترتیب با میانگین شاخص‌های علائم ۳/۶ و

ویروس) با ۴۲/۶۴ درصد کاهش نسبت به آلودگی انفرادی با WSMV تعلق داشت. این در حالی است که این کاهش ارتفاع با سایر تیمارهای آلودگی دوگانه از اختلاف معنی‌دار برخوردار نبود.

بیشترین عملکرد دانه در شاهد بدون آلودگی مشاهده شد که با تیمار W اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. تیمار B کاهش معنی‌داری در وزن دانه نسبت به دو تیمار آلودگی انفرادی با WSMV و شاهد سالم را ایجاد نمود. تمامی تیمارهای با آلودگی دوگانه کاهش قابل توجهی را در مقایسه با سایر تیمارها داشته، با اختلاف معنی‌داری در مرتبه بعدی قرار گرفتند. کمترین وزن دانه به تیمار B+W بدون اختلاف معنی‌دار با سایر تیمارهای آلودگی دوگانه تعلق گرفت (شکل ۲b). این میزان عملکرد دانه به ترتیب از ۷۳ و ۴۴ برابر کاهش در مقایسه با آلودگی‌های انفرادی با WSMV و BYDV برخوردار بود.



شکل ۳- شاخص علائم (a) و نوسانات عیار ویروس (b) بر اساس متغیر ژنوتیپ (حروف غیرمشترک نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین دو تیمار در سطح ۵٪ است).

Fig 3- Symptom scores (a) and ELISA values (b), in different genotypes (different letters indicate significant differences at the 5% level).

نسبتاً ثابت مانده و از بیشترین میزان برخوردار بود.

اثر برهمکنش تیمارهای ویروسی و ژنوتیپ

برهمکنش تیمارهای ژنوتیپ و آلوده‌سازی‌های ویروسی بر شدت علائم، میزان جذب الیزا و نیز شاخص‌های زراعی و عملکردی در ویروس چالشی WSMV تاثیر داشت.

اثر برهمکنش تیمارهای ویروسی و ژنوتیپ بر علائم و

میزان جذب الیزا برای WSMV

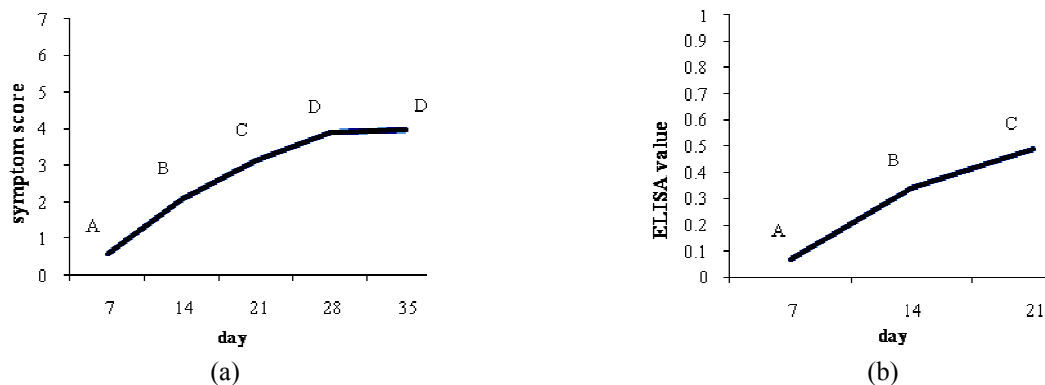
چنانچه در شکل ۵a مشاهده می‌شود، تیمار آلودگی اولیه با WSMV و سپس BYDV در ژنوتیپ‌های رسول (R-WB) و مرودشت (M-WB) بیشترین میزان علائم را نشان دادند. بر این اساس نقش آلودگی اولیه به WSMV و سپس BYDV در ژنوتیپ حساس مرودشت و رسول قابل ملاحظه است. سایر تیمارهای برهمکنشی شامل تیمار آلودگی اولیه با BYDV و سپس WSMV در ژنوتیپ مرودشت (M-BW)، آلودگی انفرادی با WSMV در ژنوتیپ‌های مرودشت (M-W) و رسول (R-W)، تیمار

۳/۵ و بدون اختلاف معنی‌دار با یکدیگر بالاترین میزان علائم را نشان دادند. این در حالی است که کراس عدل (CA) تنها با داشتن میزان ناچیزی از علائم پس از دو ژنوتیپ فوق و با داشتن اختلاف معنی‌دار با آن‌ها در جایگاه سوم قرار گرفت. بالاترین میزان جذب الیزا برای WSMV را نیز رقم‌های مرودشت و رسول به خود اختصاص دادند (شکل ۳b). این در حالی است که ژنوتیپ کراس عدل ضمن استقرار در مکان سوم و تنها با میزان اندک جذب الیزا (با میانگین نزدیک به صفر)، با اختلاف معنی‌دار از دو ژنوتیپ قبلی، متمایز بوده همچنان به‌عنوان یک ژنوتیپ مقاوم شناخته شد.

اثر تیمار زمان پس از آلوده‌سازی بر علائم و میزان

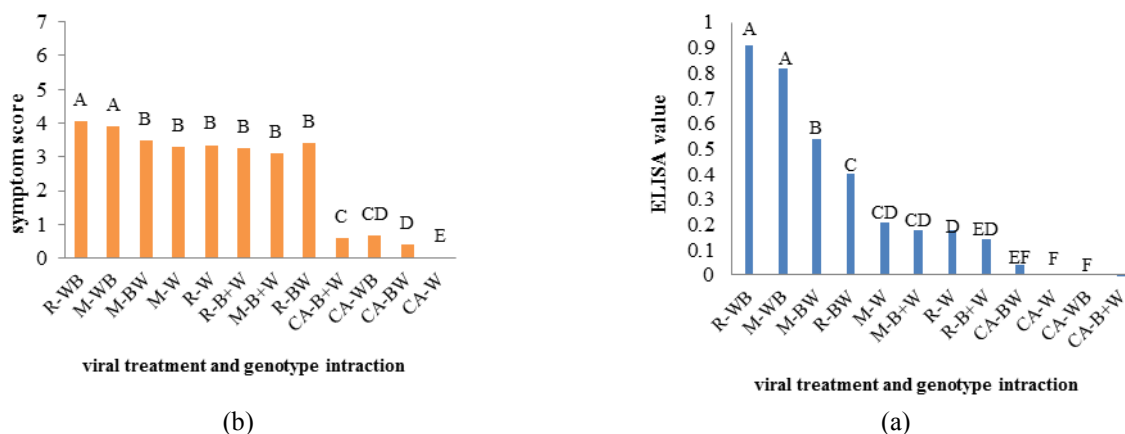
جذب الیزا برای WSMV

چنانچه در شکل ۴a مشاهده می‌شود، میزان علائم بیماری موزائیک رگه‌ای گندم در طول زمان به‌تدریج افزایش یافته است. این روند در خصوص میزان جذب الیزا نیز مشاهده شد (شکل ۴b). شاخص علائم در زمان‌های ۲۸ و ۳۵ روز پس از آلوده‌سازی با WSMV



شکل ۴- نوسانات شاخص علائم (a) و میزان جذب الیزا (b)، در زمان‌های پس از آلوده‌سازی با WSMV (حروف غیرمشترک نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین دو تیمار در سطح ۵٪ است).

Fig 4- Time course of symptom scores (a) and ELISA values (b) based on days post WSMV infection (different letters indicate significant differences at the 5% level).



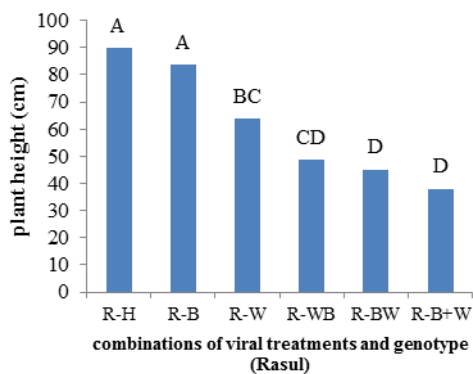
شکل ۵- نوسانات علائم (a) و میزان جذب الیزا (b) بر اساس برهمکنش ژنوتیپ و تیمار ویروسی (حروف غیرمشترک نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین دو تیمار در سطح ۵٪ است).

Fig 5 - Symptom scores (a) and ELISA values (b), based on the interaction between genotype and viral treatments (different letters indicate significant differences at the 5% level).

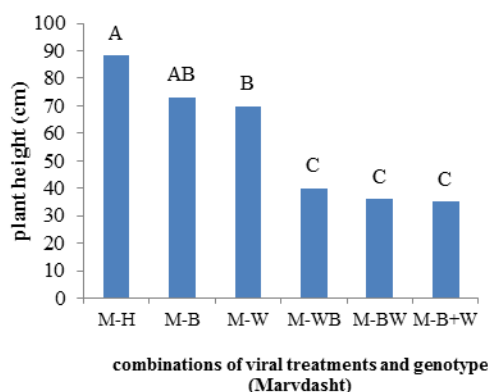
WSMV در پی داشتند.

شکل ۵b تاثیر تیمارهای دوگانه در میزان جذب الیزا برای WSMV را نشان می‌دهد. بر این اساس بالاترین میزان جذب برای تیمارهای آلودگی اولیه با WSMV و سپس BYDV در ژنوتیپ رسول (R-WB) و مرودشت (M-WB)، بدون اختلاف معنی‌دار با یکدیگر به دست آمد. در پی آن، برهمکنش‌های آلودگی اولیه با BYDV و سپس WSMV در ژنوتیپ مرودشت (M-BW)

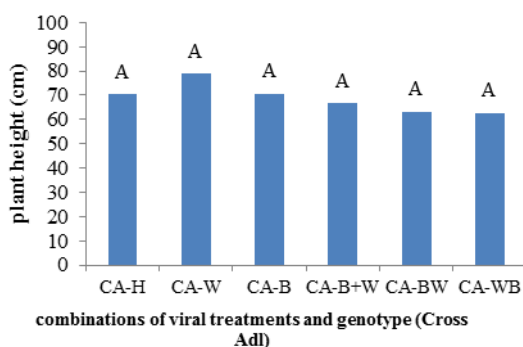
آلودگی هم‌زمان دو ویروس در ژنوتیپ‌های رسول (R-B+W) و مرودشت (M-B+W) و آلودگی اولیه با BYDV و سپس WSMV در رسول (R-BW) بدون اختلاف معنی‌دار با یکدیگر در یک گروه و در جایگاه‌های بعدی قرار گرفتند. اعمال انواع تیمارهای ویروسی در ژنوتیپ کراس‌عدل، درجات پایینی از علائم را به همراه داشت. این در حالی است که آلودگی‌های دوگانه در این ژنوتیپ علائم نسبتاً بیشتری را در مقایسه با آلودگی انفرادی با



(b)



(a)



(c)

شکل ۶- اثر برهمکنش تیمار ویروسی و رقم گندم (مرودشت (a)، رسول (b) و کراس عدل (c)) بر ارتفاع بوته (حروف غیرمشترک نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین دو تیمار در سطح ۵٪ است).

Fig 6 – Effects of interactions between genotypes and viral treatments on plant height of Marvdasht (a), Rasul (b) and Cross Adl (c) wheat varieties (different letters indicate significant differences at the 5% level).

داشته و با شاهد سالم اختلاف معنی‌دار نشان می‌دهد. این درحالی است که گروه تیمارهای آلودگی دوگانه با تیمارهای یاد شده اختلاف معنی‌داری را نشان دادند. در این بین، تیمار M-B+W کمترین میزان ارتفاع را با حدود ۶۰/۳ و ۴۹/۸ درصد کاهش به ترتیب نسبت به شاهد سالم و آلودگی انفرادی با WSMV ایجاد نمود که با سایر تیمارهای آلودگی دوگانه اختلاف معنی‌داری را نشان نداد.

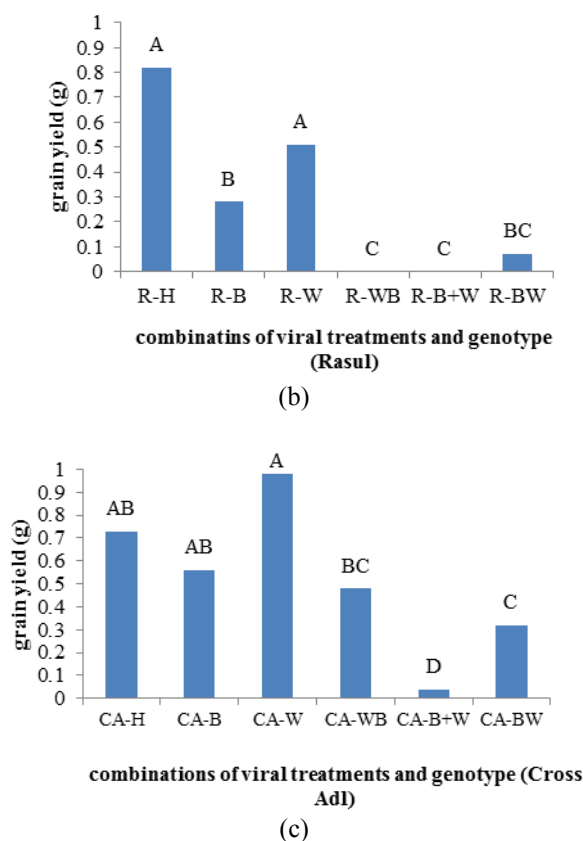
چنانچه در شکل ۶b مشاهده می‌شود، تیمار R-H (شاهد سالم رسول) بیشترین ارتفاع را با اختلاف معنی‌دار با سایر تیمارها به جز R-B دارا بود. تیمار R-W (آلودگی انفرادی به WSMV) ارتفاع کمتری نسبت به R-B را با تفاوت معنی‌داری نشان داد. برای این ژنوتیپ نیز تیمارهای آلودگی دوگانه بیشترین کاهش ارتفاع را ایجاد کرده، در

و رسول (R-BW) با اختلاف معنی‌داری از دو تیمار یاد شده قرار گرفتند. برای این صفت نیز تمامی تیمارهای مربوط به کراس عدل از میزان جذب پایینی برخوردار بودند.

اثر برهمکنش تیمارهای ویروسی و ژنوتیپ بر شاخص‌های زراعی

ارتفاع بوته

همانطور که در شکل ۶a مشاهده می‌شود، تیمار شاهد سالم مرودشت (M-H)، از بیشترین ارتفاع در بین تمامی تیمارها برخوردار بوده، اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها به جز M-B دارد. تیمار آلودگی انفرادی به WSMV (M-W) ارتفاع کمتری را بدون اختلاف معنی‌دار نسبت به M-B



شکل ۷- نوسانات میزان وزن دانه، بر اساس برهمکنش تیمار ویروسی و رقم مرودشت (a)، رسول (b) و کراس عدل (c). (حروف غیر مشترک نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین دو تیمار در سطح ۵٪ است).

Fig 7 - Effects of interactions between genotypes and viral treatments on grain yield. Marvdasht (a), Rasul (b) and Cross Adl (c) (Different letters indicate significant differences at the 5% level).

تیمارها مشاهده شد. تیمار M-B+W (آلودگی هم‌زمان دو ویروس) کمترین وزن دانه را در بین تیمارهای آلودگی دوگانه به خود اختصاص داد (شکل ۷a).

چنانچه در شکل ۷b مشاهده می‌شود، در رقم رسول، شاهد بدون آلودگی بیشترین وزن دانه را با اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها به‌جز تیمار R-W دارا بود. تیمارهای R-B و R-BW با اختلاف معنی‌دار نسبت به R-W در مرتبه بعدی قرار گرفتند. تیمارهای آلودگی دوگانه R-B+W و R-WB بدون تولید دانه و با اختلاف معنی‌دار با تیمارهای آلودگی انفرادی در مرتبه آخر قرار گرفتند.

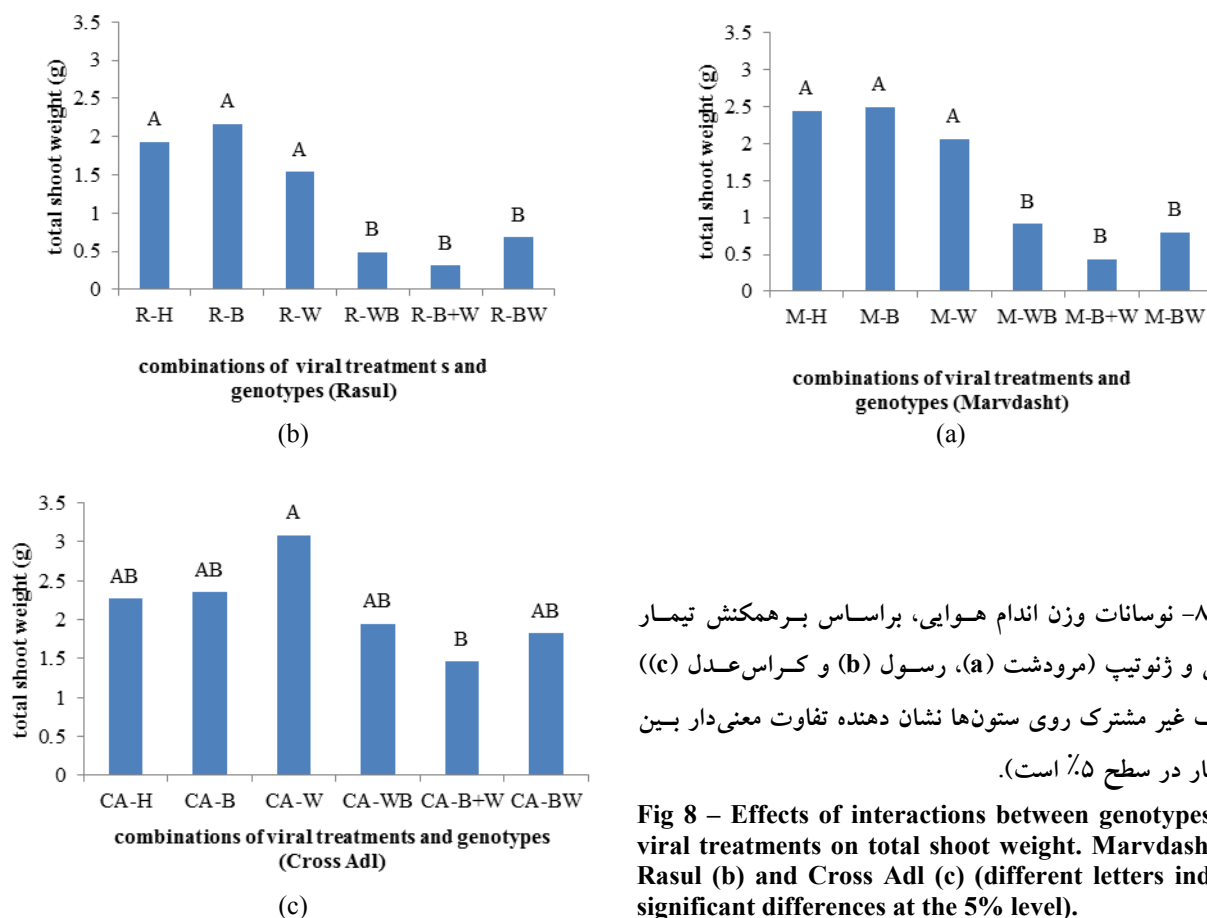
شکل ۷c وزن دانه در ژنوتیپ مقاوم کراس عدل، در تیمارهای آلودگی انفرادی و شاهد سالم را بدون اختلاف

این بین تیمارهای BW و B+W به ترتیب با ۴۹/۸ و ۵۷/۶ درصد کاهش ارتفاع نسبت به شاهد سالم و ۲۹/۲ و ۴۰/۲ درصد کاهش نسبت به آلودگی انفرادی با WSMV و با اختلاف معنی‌داری از سایر تیمارها در مرتبه آخر قرار گرفتند.

شکل ۷c اثر انواع آلودگی بر ارتفاع ژنوتیپ مقاوم کراس عدل را بدون وجود اختلاف معنی‌دار نشان می‌دهد.

عملکرد دانه

بیشترین میزان وزن دانه در رقم مرودشت مربوط به شاهد بدون آلودگی بوده که این میزان، تفاوت معنی‌داری را با تیمارهای با آلودگی انفرادی نداشت. این در حالی است که در تیمارهای آلودگی دوگانه، کاهش قابل ملاحظه‌ای در وزن دانه با اختلاف معنی‌دار نسبت به سایر



شکل ۸- نوسانات وزن اندام هوایی، براساس برهمکنش تیمار ویروسی و ژنوتیپ (مروذشت (a)، رسول (b) و کراس عدل (c)) (حروف غیر مشترک روی ستون‌ها نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین دو تیمار در سطح ۵٪ است).

Fig 8 – Effects of interactions between genotypes and viral treatments on total shoot weight. Marvdasht (a), Rasul (b) and Cross Adl (c) (different letters indicate significant differences at the 5% level).

تیمار در مروذشت و رسول به ترتیب ۸۱/۹ و ۸۳/۹ درصد نسبت به شاهد سالم و ۷۸/۶ و ۷۹/۸ درصد نسبت به تیمار با آلودگی انفرادی با WSMV، کاهش را نشان داد. همانطور که در شکل ۸c مشاهده می‌شود، در ژنوتیپ مقاوم کراس عدل، کاهش معنی‌داری در وزن اندام هوایی بین تیمارها مشاهده نشد. این در حالی است که در این ژنوتیپ نیز آلودگی هم‌زمان با دو ویروس به کمترین میزان وزن اندام هوایی منجر گردید.

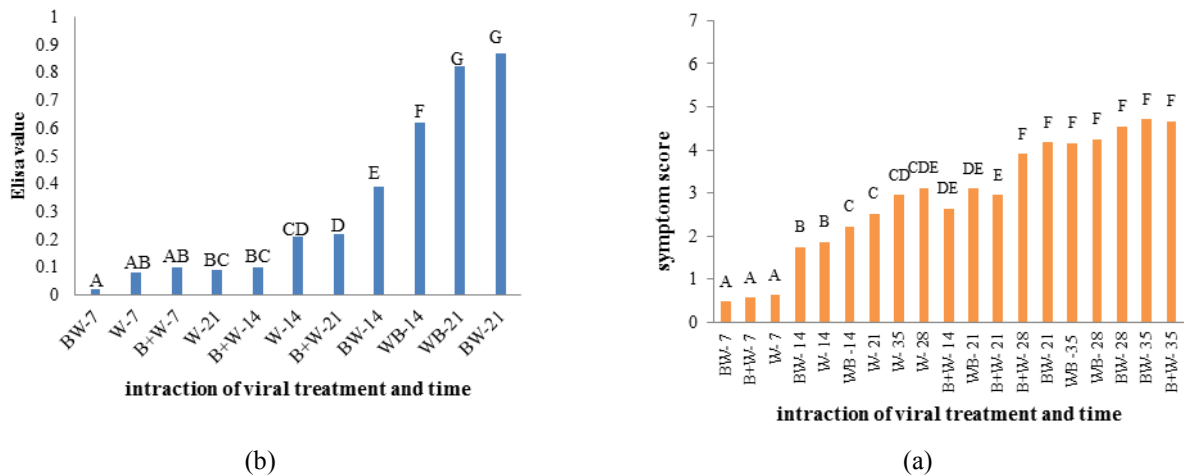
اثر برهمکنش تیمارهای ویروسی و زمان پس از آلودگی بر علائم و میزان جذب الیزا برای WSMV

بیشترین میزان علائم در زمان‌های ۲۸ و ۳۵ روز پس از آخرین آلوده‌سازی با WSMV و برای تیمارهای آلودگی دوگانه به دست آمد. این در حالی است که هفته اول پس از

معنی‌دار نشان می‌دهد. این در حالی است که تیمارهای با آلودگی دوگانه CA-B+W و CA-BW با اختلاف معنی‌دار از تیمارهای آلودگی انفرادی و شاهد سالم، کمترین وزن دانه را به دنبال داشتند.

وزن اندام هوایی

وزن اندام هوایی در شاهد بدون آلودگی در رقم‌های مروذشت (شکل ۸a) و رسول (شکل ۸b) با تیمارهای آلودگی انفرادی اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. این در حالی است که در هر سه نوع تیمار آلودگی دوگانه، کاهش معنی‌دار در وزن اندام هوایی نسبت به سایر تیمارها مشاهده شد. تیمار M-B+W (آلودگی هم‌زمان دو ویروس) کمترین وزن اندام هوایی را با اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارهای آلودگی انفرادی و شاهد سالم ایجاد نمود. این



شکل ۹ - نوسانات علائم (a) و میزان جذب الیزا (b) بر اساس برهمکنش زمان (روز پس از آلودگی) و تیمار ویروسی (حروف غیر مشترک نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین دو تیمار در سطح ۵٪ است).

Fig 9 - Symptoms scores (a) and ELISA values (b), based on the interaction between time (days post inoculation) and viral treatment (different letters indicate significant differences at the 5% level).

اثر برهمکنش تیمارهای ویروسی، ژنوتیپ و زمان پس از آلودگی بر علائم و میزان جذب الیزا برای WSMV

کمترین میزان شاخص علائم در تیمار آلودگی انفرادی در زمان‌های مختلف پس از آلودگی، برای ژنوتیپ مقاوم کراس عدل مشاهده شد. بروز آلودگی‌های دوگانه در هر سه ژنوتیپ در زمان‌های ۲۱، ۲۸ و ۳۵ روز پس از آلوده‌سازی با WSMV، موجب تشدید میزان علائم گردید. در رقم‌های رسول و مرودشت این تشدید علائم با تیمار آلودگی انفرادی با WSMV اختلاف معنی‌داری را نشان داد. در ژنوتیپ کراس عدل تشدید علائم در تیمارهای آلودگی هم‌زمان در زمان‌های ۲۱، ۲۸ و ۳۵ روز و آلودگی اولیه با WSMV و سپس BYDV در زمان ۳۵ روز پس از آلوده‌سازی با WSMV، اختلاف معنی‌داری را نسبت به آلودگی انفرادی با WSMV در زمان‌های مشابه نشان داد. بیشترین میزان علائم به تیمار آلودگی اولیه با BYDV و سپس WSMV در رقم رسول در ۲۸ روز پس از آلوده‌سازی با WSMV تعلق گرفت. بیشترین میزان جذب

آخرین آلوده‌سازی کمترین میزان بروز علائم در این تیمارها مشاهده شد (شکل ۹a).

تیمارهای آلودگی اولیه با BYDV و سپس WSMV (BW) و برعکس (WB)، در زمان ۲۱ روز پس از آلوده‌سازی (BW-21 و WB-21) بیشترین میزان جذب الیزا را به خود اختصاص دادند. تیمارهای آلودگی اولیه با WSMV و سپس BYDV و برعکس آن، در زمان ۱۴ روز پس از آلوده‌سازی به ترتیب در مرتبه‌های سوم و چهارم قرار گرفته، از اختلاف معنی‌داری بین خود و با سایر تیمارها برخوردار بودند. این درحالی است که تیمارهای آلودگی اولیه با BYDV و سپس WSMV (BW) و نیز آلودگی انفرادی با WSMV (W) و آلودگی هم‌زمان دو ویروس (B+W) در زمان ۷ روز پس از آلوده‌سازی، به ترتیب کمترین میزان جذب الیزا را بدون اختلاف معنی‌دار بین خود، دارا بودند (شکل ۹b).

افزایش یافته و در نهایت شدت بیماری تحت تاثیر قرار گیرد (Zhang *et al.*, 2001). در اکثر گزارش‌های مربوط به آلودگی‌های مخلوط با پوتی‌ویروس‌ها، در حالی که در عیار پوتی‌ویروس تغییری ایجاد نشده است، عیار غیر پوتی‌ویروس درجاتی از افزایش را نشان می‌دهد. بروز این پدیده را به نقش پروتئین سرکوب کننده خاموشی ژن (HC-Pro) در این گروه ویروسی مرتبط می‌دانند (Dunoyer and Voinnet, 2005). از دیگر سو گزارش‌های موجود، رخداد پدیده هم‌افزایی را تنها در بین اعضاء گروه‌های اول و دوم کوتولگی زرد جو و غلات (*Barley and cereal yellow dwarf virus, B/CYDVs*) توصیف نموده است (Zhang *et al.*, 2001; Seabloom, 2009; Miller & Rasochova, 1997; Gill & Comeau, 1971; Halstead & Gill, 1977). اطلاعاتی از بروز هم‌افزایی این گروه ویروسی در برهمکنش با دیگر گروه‌ها که قرابت کمتری با BYDV دارند، در دست نمی‌باشد.

نتایج این پژوهش از اثر معنی‌دار تیمارهای مختلف ویروسی، ژنوتیپ‌ها، زمان پس از آلوده سازی با WSMV و برهمکنش‌های دوگانه و سه‌گانه (جدول ۱) بر تمامی صفات اندازه‌گیری شده حکایت دارد. لازم به توضیح است که به‌منظور راستی‌آزمایی داده‌های ارائه شده در این مقاله، آزمایش با تعدادی از تیمارهای ویروسی تکرار گردید. نتایج به‌دست آمده از این تیمارها درجات بالایی از هم‌خوانی را با آنچه اکنون گزارش می‌شود، نشان داد. این نتایج با انجام مایه‌زنی دو ویروس یاد شده به‌صورت-های *super-infection* و *co-infection* (Miralles *et al.*, 2001; Saldana *et al.*, 2003) به‌دست آمد. بر این اساس، بیشترین میزان عیار WSMV، به تیمارهای ویروسی دوگانه تعلق گرفت. در این بین، آلودگی اولیه با WSMV و سپس BYDV (WB) و برعکس (BW) بیشترین میزان افزایش را

الیزا به‌ترتیب به تیمارهای آلودگی اولیه با WSMV و سپس BYDV و برعکس آن، در ژنوتیپ‌های مرودشت و رسول و در زمان ۲۱ روز پس از آلوده‌سازی با WSMV و تیمار آلودگی اولیه با WSMV و سپس BYDV در رسول در ۱۴ روز پس از آلوده‌سازی با WSMV، بدون اختلاف معنی‌دار با یکدیگر تعلق گرفت. بر این اساس زمان ۲۱ روز پس از آلوده‌سازی در رقم مرودشت و رسول در تیمار آلودگی اولیه با WSMV و سپس BYDV بالاترین میزان جذب را نشان داد، بیشترین عیار ویروس را در پی داشتند. کمترین میزان جذب الیزا در تیمارهای مختلف ژنوتیپ کراس‌عدل در زمان‌های ۷ و ۱۴ روز به‌دست آمد.

بحث

بیماری‌های کوتولگی زرد جو و موزائیک رگه‌ای گندم از مهم‌ترین بیماری‌های غلات دانه‌ریز هستند (Afsharifar *et al.*, 2004) که حضور هم‌زمان آن‌ها در مزارع گندم و جو ایران، گزارش شده است (Sahragard *et al.*, 2010). وجود پروتئین‌های سرکوب‌کننده خاموشی ژن در تعدادی از ویروس‌ها، مثل HC-Pro در پوتی‌ویروس‌ها (Merai *et al.*, 2006) یا P6 در BYDV-PAV (Liu *et al.*, 2012) می‌تواند تشدید علائم و تکثیر ویروس در گیاه میزبان را منجر شود. تحقیق حاضر به دلیل احتمال وقوع هم‌زمان دو بیماری فوق در مزارع گندم و به‌منظور تعیین واکنش ژنوتیپ‌های مختلف در این گونه آلودگی‌ها طراحی و اجرا شد. بر این اساس تاثیر حضور BYDV-PAV، بر عیار تریتموویروس WSMV به‌عنوان دو ویروس چالشی که هر دو دارای ترادف‌های مرتبط با سرکوب‌کنندگی سازوکار خاموشی ژن هستند، بررسی شد. چنانچه گفته شد، در هم‌افزایی ممکن است عیار هر دو ویروس یا یکی از آن‌ها

(۵b). بر این اساس در صورت بروز آلودگی اولیه با WSMV و سپس BYDV در ژنوتیپ حساس، بیشترین عیار ویروس و شاخص علائم برای WSMV به‌دست خواهد آمد. این نتیجه به‌همراه داده‌های مربوط به آلودگی اولیه با BYDV و سپس WSMV، نشان از اهمیت آلودگی‌های دوگانه به این دو ویروس در ژنوتیپ‌های حساس داشته که با تحقیقات وینترمانتل (Wintermantel, 2005) در خصوص اثر هم‌افزایی آلودگی مخلوط سه ویروس شته‌زاد چغندر قند بر روند توسعه علائم و غلظت ویروس در ژنوتیپ‌های حساس در مقایسه با لاین‌های مقاوم، سازگار می‌باشد. اعمال تیمارهای BW و WB میزان جذب الیزای بیشتری را نسبت به تیمارهای آلودگی انفرادی داشتند که نشانگر تکثیر بیشتر ویروس موزائیک رگه‌ای گندم است. بروز این پدیده در کنار کاهش قابل ملاحظه شاخص‌های زراعی، به‌ویژه در رقم‌های حساس و نسبتاً حساس مرودشت و رسول، قابل توجه می‌باشد. در ژنوتیپ مقاوم کراس عدل آلودگی‌های دوگانه منجر به بروز درجات اندکی از علائم و جذب الیزا شد. این در حالی است که این تیمارها به‌ویژه CA-B+W منجر به کمترین میزان عملکرد دانه و نیز وزن اندام هوایی گشته که نشان از بروز پدیده‌هایی شبیه به هم‌افزایی این دو ویروس چالشی دارد. بنابراین انتظار می‌رود علی‌رغم وجود مقاومت به WSMV و فقدان علائم عمده در کراس عدل، در صورت بروز آلودگی هم‌زمان با دو ویروس، درجاتی از کاهش محصول در این ژنوتیپ نیز مشاهده شود. معرفی پروتئین‌های P6 و HC-Pro به ترتیب در ویروس‌های BYDV و WSMV به‌عنوان سرکوبگرهای خاموشی ژن و نقش آن‌ها در شکست مقاومت به ویروس‌های گیاهی، می‌تواند افزایش میزان جذب الیزا در تیمارهای ویروسی دوگانه را توجیه نماید. مشاهده‌ی کاهش در شاخص‌های

به‌دنبال داشتند. این در حالی است که تیمارهای آلوده‌سازی هم‌زمان (co-infection) دو ویروس (B+W) و نیز آلودگی انفرادی با WSMV (W) با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند (شکل ۱b). بر این اساس، چنانچه هر یک از ویروس‌های چالشی یک هفته قبل از دیگری (به‌صورت super-infection) میزبان را آلوده نمایند، اثرات قابل توجهی را بر عیار WSMV به‌همراه خواهد داشت. بیشترین میزان شاخص علائم، در تیمارهای ویروسی دوگانه به‌دست آمد. در بین انواع تیمارهای ویروسی، بیشترین شاخص علائم به تیمار ویروسی آلودگی اولیه با WSMV و سپس BYDV مربوط بوده که با اختلاف معنی‌داری از سایر تیمارها قرار گرفت (شکل ۱a). بنابراین تیمار WB، علاوه بر دارا بودن بالاترین عیار WSMV، بیشترین میزان شاخص علائم را نیز به‌دنبال داشت. بر این اساس در این نوع تیمار ویروسی بین افزایش شاخص علائم و نیز میزان جذب الیزا همبستگی وجود داشت. این نتایج با مطالعات ون و همکاران (Wen et al., 1991) که نقش فواصل آلودگی را در تداوم نوع واکنش به دو ویروس گزارش می‌نماید، هم‌خوانی دارد. همچنین تمامی تیمارهای دوگانه کمترین مقدار را برای صفاتی مثل ارتفاع بوته، وزن اندام هوایی و محصول، در پی داشت (شکل ۲) که با گزارش‌های متعدد در تیمارهای ویروسی و میزبان-های مختلف هم‌خوانی دارد (Murphy and Bowen, 2006; Karyeija et al., 2000; Wintermantel, 2005).

در برهمکنش عامل ژنوتیپ و تیمار ویروسی، بیشترین جذب الیزا و همچنین بالاترین شاخص علائم به رقم‌های حساس مرودشت و رسول و تیمارهای آلودگی اولیه با WSMV و سپس BYDV مربوط بوده، تیمار آلودگی اولیه با BYDV و سپس WSMV در مرودشت با اختلاف معنی‌داری در مرتبه بعدی قرار گرفت (شکل‌های ۵a و

در حالی است که در تیمارهای آلودگی دوگانه روند افزایشی پس از ۱۴ روز نیز ادامه یافت. این پدیده با فرض تشدید تکثیر ویروس اول (WSMV) و افزایش عیار آن در حضور ویروس دوم (BYDV) قابل توجیه می‌باشد. این افزایش در تحقیقات تاتیننی و همکاران در بررسی اثر هم‌افزایی در دو بازه‌ی زمانی بعد از آلودگی دوگانه در دو رقم از سه رقم مورد آزمایش نیز مشاهده شد (Tatineni et al., 2010). اطلاعات ارائه شده در اعمال برنامه‌های مدیریتی بر علیه دو ویروس مورد مطالعه قابل استفاده خواهد بود.

سپاسگزاری

نویسندگان لازم می‌دانند از همکاری آقای مهندس افشار استخر در انجام تجزیه و تحلیل آماری داده‌های آزمایش قدردانی نمایند.

زراعی فوق به‌همراه بالاترین میزان علائم و جذب الیزا از اهمیت بروز این‌گونه آلودگی‌ها حکایت دارد.

نتایج بررسی آلودگی دوگانه WSMV با *Triticum mosaic virus* (TriMV) نیز نشانه‌هایی از هم‌افزایی در دو رقم از سه ژنوتیپ گندم را که منجر به علائم تشدید یافته کوتولگی و بد شکل شدن برگ‌ها و همچنین تجمع هر دو ویروس در ۱۴ روز پس از آلوده‌سازی بود، نشان داد (Tatineni et al., 2010). در این پژوهش نیز اعمال آلودگی‌های دوگانه تاثیر مشهودی را بر کاهش ارتفاع بوته (شکل ۲a)، عملکرد دانه (شکل ۲b) و نیز وزن اندام هوایی (شکل ۲c)، در مقایسه با شاهد بدون آلودگی و شاهد با آلودگی انفرادی به WSMV نشان داد.

در شاهد با آلودگی انفرادی به WSMV میزان جذب الیزا در ۲۱ روز پس از آلوده‌سازی با WSMV نسبت به ۱۴ روز پس از آلوده‌سازی با WSMV کاهش یافت. این

منابع

- Afsharifar, A. R., Sadeghi, M. S., Yassaie, M., Esmaelzadeh Hosseini, S. A. R. and Izadpanah, K. 2004. The status of *Barley yellow dwarf* and *Cereal yellow dwarf viruses* in Iran. Proceedings of 16th Iranian Plant Protection Congress Iran. p: 76.
- Agrios, G.N. 2004. Plant Pathology. Fifth edition. Elsevier. USA. 922 p.
- Anjos, J. R., Jarfors, U. and Ghabrial, S. A. 1992. Soybean mosaic potyvirus enhances the titer of two comoviruses in dually infected soybean plants. *Phytopathology* 82: 1022-1027.
- Barrett, L. G., Kniskern, J. M., Bodenhausen, N., Zhang, W. and Bergelson, J. 2009. Continuum of specificity and virulence in plant host-pathogen interactions: causes and consequences. *New Phytologist* 183: 513-529.
- Behjatnia, S. A. A., Afsharifar, A. R., Tahan, V., Amid Motlagh, M. H., Eini Gandomi, O., Niazi, A. and Izadpanah, K. 2011. Widespread occurrence and molecular characterization of *Wheat dwarf virus* in Iran. *Australasian Plant Pathology* 40: 12-19.
- Clark, M. F and Bar-Joseph, M. 1984. Enzyme immunosorbent assay in plant virology. pp: 51-58 *In: Methods in Virology*, Vol. 7 (K. Maramorosch and H. Koprowski, Eds.). Academic Press. New York.
- Dunoyer, P., and Voinnet, O. 2005. The complex interplay between plant viruses and host RNA silencing pathways. *Current Opinion of Plant Biology* 8: 415-423.
- Gill, C. C. and Comeau, A. 1977. Synergism in cereals between corn leaf aphid-specific and aphid-nonspecific isolates of barley yellow dwarf virus. *Phytopathology* 67: 1388-1392.
- Halstead, B. E. and Gill, C. C. 1971. Effect of inoculation of oats with paired combinations of barley yellow dwarf virus isolates. *Canadian Journal of Botany*. 49: 577-581.
- Hammond, J., Lecoq, H. and Raccah, B. 1999. Epidemiological risks from mixed virus infections and transgenic plants expressing viral genes. *Advances in Virus Research* 54: 189-314.
- Irwin, M.E. and Thresh, J.M. 1990. Epidemiology of barley yellow dwarf: a study in ecological complexity.

- Annual Review of Phytopathology. 28: 393-424.
- Jensen, S. G. and D'arcy, C.J. 1995. Effect of barley yellow dwarf on host plants. pp. 55-74 *In*: Barley Yellow Dwarf: 40 Years of Progress (C.J. D' Arcy and P.A. Burnett, Eds.). APS press. St. Paul. Minnesota.
- Jensen, S. G., Lane, L. C. and SEIFERS, D. L. 1996. A new disease of maize and wheat in the high plains. *Plant Disease* 80: 1387-1390.
- Karyeija, R. F., Kreuse, J. F., Gibson, R. W. and Valkonen, J. P. T. 2000. Synergistic interactions of a potyvirus and a phloem-limited crinivirus in sweet potato plants. *Virology* 269: 26-36.
- Kokkinos, C. D. and Clark, C. A. 2006. Interactions among Sweet potato chlorotic stunt virus and different potyviruses and potyvirus strains infecting sweet potato in the United States. *Plant Disease* 90: 1347-1352.
- Lapierre, H. and Signoret, P. A. 2004. *Viruses and Virus Disease of Poacea*. INRA. Belgium. 857 p.
- Latham, J. R. and Wilson, A. K. 2008. Transcomplementation and synergism in plants: implications for viral transgenes? *Molecular Plant Pathology* 9: 85-103.
- Liu, Y., Zhai, H., WU, B. and Wang, X. 2012. Two suppressors of RNA silencing encoded by cereal-infecting Luteoviridae. *Journal of General Virology* 93: 1825-1830.
- Mahmood, T., Hen, G. I. and Jenson, S. G. 1998. Mixed infection of hard red winter wheat with high plains virus and wheat streak mosaic virus from wheat curl mites in Nebraska. *Plant Disease* 82: 311-315.
- Martin, T. J. 1978. Procedures for evaluating wheat streak mosaic virus resistance. *Plant Disease Reports* 62: 1062-1066.
- Martin, 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.
- Massumi, M., and Izadpanah, K. 2001. Wheat Streak Mosaic. Technical Bulletin No.1. Plant Virology Research Center, Faculty of Agriculture, Shiraz University, 45 p. (in Farsi).
- Massumi, M. and Izadpanah, K. 2002. Host range and transmission of wheat Eqlid mosaic virus. *Iranian Journal of Plant Pathology* 38: 35-37. (in Farsi with English summary).
- Matthews, R. E. F. 1991. *Plant Virology*, 3rd ed. San Diego, CA. Academic Press.
- Merai, Z., Ker'enyi, Z., Kert'esz, S., Magna, M., Lakatos, L. and Silhavy, D. 2006. Double stranded RNA binding may be a general plant viral strategy to suppress RNA silencing. *Journal of Virology* 80: 5747-5756.
- Miller, W. A. and Rasochova, L. 1997. Barley yellow dwarf viruses. *Annual Review of Phytopathology* 35: 167-190.
- Miralles, R., Ferrer, R., Sole, R.V., Moya, A. and Elena, S.V. 2001. Multiple infection dynamics has pronounced effects on the fitness of RNA viruses. *Journal of Evolutionary Biology* 14: 654-662.
- 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.
- Pruss, G., GE, X., Shi, X. M., Carrington, J. C. & Vance, V. B. 1997. Plant viral synergism: the potyviral genome encodes a broad-range pathogenicity enhancer that transactivates replication of heterologous viruses. *Plant Cell* 9: 859-868.
- Sahragard, N. Izadpanah, K. Babai, GH. Eshaghi, D. Afsharifar, AR. and Massumi, M. 2010. Integrated management of viral diseases of wheat in Chahar Mahal and Bakhtiari province. *Iranian Journal of Plant Pathology* 46: 135-152 (in Farsi with English summary).
- Saldana, J., Elena, S. F. and Sole, R. V. 2003. Coinfection and superinfection in RNA virus populations: a selection-mutation model. *Mathematical Biosciences* 183: 135-160.
- SAS Institute. SAS 9.1.3. SAS. Institute Inc. Cary, NC, 2002-2005.
- Sbihi, Y., Rmiqui, A., Rodriguez-cabezas, M.N., Orduna, A., Rodriguez-Torreza, A and Osuna, A. 2001. Comparative sensitivity of six serological tests and diagnostic value of ELISA using purified antigen in hydatidosis. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 15: 14-18.
- Scheets, K. 1998. *Maize chlorotic mottle machlomovirus* and *Wheat streak mosaic rymovirus* concentrations increase in the synergistic disease corn lethal necrosis. *Virology* 242: 28-38.
- Seabloom, E. W., Hosseini, P. R., Power, A. G. and Borer, E. T. 2009. Diversity and composition of viral communities: coinfection of Barley and Cereal yellow dwarf viruses in California grasslands. *American Naturalist* 173: E79-E98.
- Taiwo, M. A., Kareem, K. T., Nsa, I. Y. and D'a Hughes, J. 2007. Cowpea viruses: effect of single and mixed

- infections on symptomatology and virus concentration. *Virology Journal* 4: 95.
- Tatineni, S., Graybosch, R. A., Hein, G. L., Wegulo, S. N., and French, R. 2010. Wheat cultivar-specific disease synergism and alteration of virus accumulation during co-infection with *Wheat streak mosaic virus* and *Triticum mosaic virus*. *Phytopathology* 100: 230-238.
- Wang, Y., Gaba, V., Yang, J., Palukaitis, P. and Gal-on, A. 2002. Characterization of synergy between Cucumber mosaic virus and potyviruses in cucurbit hosts. *Phytopathology* 92: 51-58.
- Wen, F., Lister, R. M. and Fattouh, F. A. 1991. Cross-protection among strains of barley yellow dwarf virus. *Journal of General Virology* 72: 791-799.
- Wintermantel, W. M. 2005. Co-infection of Beet mosaic virus with beet yellowing viruses leads to increased symptom expression on sugar beet. *Plant Disease* 89: 325-331.
- Wright, P. F., Nilsson, E., Van Rooij, E.M.A., Lelenta, M. and Jeggo, M.H. 1993. Standardisation and validation of enzyme linked immunosorbent assay techniques for the detection of antibody in infectious disease diagnosis. *Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties* 12: 435-450.
- Yassaie, M., Massumi, M., Amin, H. and Izadpanah, K. 2002. Evaluation of *Wheat streak mosaic virus* response in commercial and native wheat and wheat ancestors. *Proceeding of 15th Iranian Plant Protection Congress Razi University of Kermanshah, Kermanshah, Iran.* p: 32.
- Zhang, X. Z., Holt, J. and Colvin, J. 2001. Synergism between plant viruses: a mathematical analysis of the epidemiological implications. *Plant Pathology* 50: 732-746.

