

شناسایی و مدیریت ویروس موزائیک خیار در مزارع سرخارگل (*Echinacea purpurea*)

Identification and management of *Cucumber mosaic virus* in Purple coneflower (*Echinacea purpurea*) Farms

سارا قارونی کاردانی^{۱*}، مریم رستگار^۲

۱. استادیار پژوهشی، بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران، (نگارنده مسئول)
۲. استادیار پژوهشی، بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اصفهان، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱/۲۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۲۳

چکیده

قارونی کاردانی، س. و رستگار، م. شناسایی و مدیریت ویروس موزائیک خیار در مزارع سرخارگل (*Echinacea purpurea*)
نشریه علمی ترویجی فناوری گیاهان دارویی ایران، دوره ۰۲ - شماره ۰۲ - پایبند ۰۲ بهار و تابستان ۱۳۹۸: صفحه ۳۴-۴۶.

سرخارگل یکی از مهم ترین گیاهان دارویی مورد استفاده در صنایع داروسازی است. مواد مؤثره این گیاه خاصیت ضد قارچی، باکتریایی و ویروسی داشته، همچنین تقویت کننده سیستم دفاعی بدن می باشد. ویروس ها از عوامل مهم خسارت زای محصولات کشاورزی در دنیا می باشند. گیاهان دارویی نیز، از جمله آنها در امان نیستند. تاکنون ۱۰ ویروس گیاهی آلوده کننده گیاه سرخارگل، در دنیا گزارش شده است که تقریباً همه آنها، از جمله ویروس موزائیک خیار (*Cucumber mosaic virus, CMV*)، بیماری های مهم و خسارت زایی را ایجاد می نمایند. طی بازدیدهای به عمل آمده در سال ۱۳۹۷، از مزارع استان اصفهان، علائمی نظیر موزائیک، زردی و تاولی شدن سطح برگ ها در بوته های سرخارگل مشاهده شد. جهت بررسی آلودگی نمونه های جمع آوری شده به ویروس، از روش نسخه برداری معکوس و اکنش زنجیره ای پلیمرز (RT-PCR) استفاده شد. نتایج آزمون یاد شده با همانندسازی قطعه ۸۶۷ جفت باز، به وسیله آغازگرهای اختصاصی طراحی شده برای تکثیر قسمتی از ژن پروتئین پوششی در نمونه های دارای علائم و فقدان آن در گیاه سالم نشان دهنده آلودگی نمونه های مذکور به CMV بود. از آنجایی که در گیاهان دارویی استفاده از سموم شیمیایی علیه ویروس ها و ناقلین آنها قابل قبول نیست، به همین دلیل تشخیص به موقع آلودگی، اطلاعات مربوط به علائم بیماری و خصوصیات عامل بیماری را تقریباً کمک به پیشگیری از آلودگی به این ویروس خسارت زا می کند. بنابراین بازدید دائمی مزارع سرخارگل، توسط کارشناسان مجرب، رعایت بهداشت زراعی، استفاده از بذور سالم و حذف گیاهان آلوده ضرورت دارد. همچنین علف های هرز به عنوان منابع بالقوه آلودگی می توانند تأثیر بسزایی در گسترش بیماری داشته باشند و مدیریت آنها در مزرعه و اطراف آن یکی از روش های پیشگیری از بیماری و کاهش احتمال وقوع آن می باشد.

واژگان کلیدی: سرخارگل، شته ناقل، گیاهان دارویی، مدیریت بیماری، ویروس موزائیک خیار

* آدرس پست الکترونیکی نگارنده مسئول: saragharooni@yahoo.com

مقدمه

می‌شود (Bruneton, 1995). هم‌اکنون فرآورده‌های تجارتي سرخارگل به عنوان تصفیه کننده خون، ضد عفونی کننده و آرام بخش معرفی می‌شوند (Gladisheva, 1995).

تاکنون ۱۰ ویروس گیاهی آلوده کننده گیاه سرخارگل، در دنیا گزارش شده است که تقریباً همه آن‌ها، از جمله ویروس موزائیک خیار (Cucumber *mosaic virus*, CMV)، بیماری‌های مهم و خسارت‌زایی را ایجاد می‌نمایند. CMV متعلق به جنس *Cucumovirus* و خانواده *Bromoviridae* می‌باشد. ژنوم اعضای این خانواده تقریباً ۸ کیلو باز طول دارد و به صورت سه مولکول آر.ان.ای خطی تک لای مثبت می‌باشد. پروتئین پوششی (CP) ویروس CMV از آر.ان.ای شماره ۳ تولید می‌شود و در انتقال ویروس با شته، حرکت سلول به سلول و حرکت سیستمیک دخالت دارد (Hull, 2013). بر طبق مطالعات تبارزایی بر اساس ژن پروتئین پوششی، جدایه‌های CMV به سه زیر گروه تقسیم می‌شوند (Roossinck, 2002).

ویروس موزائیک خیار (CMV) نخستین بار در سال ۱۹۱۶ توسط دولیتل و جاگر به عنوان ویروس بیماری‌زای گیاهی در بوته‌های خیار و هندوانه (ایالت میشیگان) و خیار (نیویورک) گزارش شد (Palukaitis et al. 1992; Doolittle, 1916).

سرخارگل (اکیناسه) با نام علمی *Echinacea purpurea* گیاهی علفی و چند ساله هست. این گیاه متعلق به تیره میناسانان (*Asteraceae*) بوده و بومی آمریکای شمالی است، ولی امروزه در اکثر نقاط اروپا، آسیا و همچنین ایران به عنوان گیاه دارویی پرطرفدار کشت می‌شود. گونه‌های مختلفی از این گیاه وجود دارد و همه قسمت‌های آن به ویژه ریشه‌ها، دارای خواص درمانی بوده و از آن استفاده دارویی می‌شود. این گیاه در بین ۱۰ گیاه دارویی پرمصرف در دنیا قرار دارد (Chevallier, 1996). سرخارگل برای درمان بیش از ۷۰ اختلال در انسان استفاده می‌شود و جزء ترکیبات حدود ۳۰۰ داروی گیاهی است (Hudson, 2012). اثرات داروشناسی عصاره سرخارگل به چند دسته از مواد موجود در آن نسبت داده می‌شود. در ایالات متحده آمریکا از قسمت‌های هوایی و ریشه این گیاه ترکیبات قطبی و غیرقطبی (آلکانئیدها، مشتقات اسید کافئیک، پلی فنولیک، پلی‌آلکین‌ها، پلی‌ساکارید و اسانس) استخراج شده و به صورت داروی گیاهی یا مکمل غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Hudaiba et al. 2002). مواد مؤثره سرخارگل، خواص ضد قارچی، باکتریایی و ویروسی داشته و سبب تقویت سیستم دفاعی بدن و افزایش تولید ایمونوگلوبین جی

ویروس‌های گیاهی از راه‌های مختلف بین گیاهان انتقال می‌یابند که متداول‌ترین راه انتقال آنها از طریق حشرات ناقل است. رابطه‌ی ناقل و ویروس می‌تواند از انواع ناپایا، نیمه پایا، گردشی و تکثیری باشد (Matthews, 1991).

انتشار CMV در طبیعت به وسیله بذر و شته صورت می‌گیرد. تمام سنین پورگی شته‌ها با ۵ تا ۱۰ ثانیه تغذیه از گیاهان آلوده، توانایی انتقال ویروس را به گیاهان سالم پیدا می‌کنند (Gildow et al. 2008). این ویروس توسط ۶۰ گونه شته از جمله (*Myzus persicae*, *Aphis craccivora* و *Acyrtosiphon pisum*) به صورت ناپایا منتقل می‌شود. در این میان شته سبز هلو (*M. persicae*) و شته جالیز (*Aphis gossypii*) از ناقلین مهم ویروس موزائیک خیار هستند. همچنین انتقال مکانیکی نیز در مورد این ویروس گزارش شده است (Dunich & Mishchenko, 2015). علاوه بر روش مکانیکی، حداقل ۱۰ گونه سس می‌توانند CMV را از بوته‌های آلوده به گیاه سالم منتقل کنند (Francki & Hatta, 1980).

یکی از روش‌های تشخیص این ویروس آزمون سرولوژی می‌باشد. با استفاده از آزمون الیزا می‌توان از نظر سرولوژیکی، پوشش پروتئینی CMV را با استفاده از آنتی‌بادی‌های چند همسانه‌ای (پلی‌کلونال)

CMV با پراکنش جهانی از گونه ویروس‌هایی است که در قالب سویه‌های مختلف و بسیار متعدد در طبیعت وجود دارد و در مقایسه با سایر ویروس‌ها وسیع‌ترین دامنه میزبانی را دارد. این ویروس قادر به آلوده سازی ۱۲۰۰ گونه گیاهی در بیش از ۱۰۰ خانواده گیاهی است. مهم‌ترین گیاهانی که به این ویروس مبتلا می‌گردند، شامل: خیار، طالبی، کدو، فلفل، اسفناج، گوجه‌فرنگی، کرفس، چغندر، انواع لوبیا، موز، و گیاهان تیره شلغم و زنبق می‌باشند (Jacquemond, 2012).

تاکنون اپیدمی‌های خطرناک و مهمی توسط این ویروس ایجاد شده است که از جمله آن‌ها می‌توان به سفید شدن برگ‌های گوجه‌فرنگی در نیویورک، موزاییک حبوبات در جنوب شرق آمریکا، موزاییک خربزه در کالیفرنیا و موزاییک گیاهان گلخانه‌ای در اروپا اشاره کرد (Palukaitis et al. 1992).

میزان خسارت ویروس و تلفات محصول، در سال‌های مختلف متفاوت است و به شرایط محیطی، فراوانی ناقل، نوع میزبان، زمان آلودگی، سویه‌ی ویروس و عوامل دیگر بستگی دارد. علائم ایجاد شده توسط این ویروس متفاوت و به صورت لکه‌های سبز تیره و روشن موزائیک، زردی عمومی، کوتولگی، پیچیدگی، بدشکلی و تاوولی شدن برگ‌ها، زردی و نکروز موضعی می‌باشد (Palukaitis et al. 1992).

سرخارگل و ارائه راه کارهایی جهت مدیریت بیماری
CMV در مزارع آلوده می‌باشد.

مواد و روش‌ها

طی بازدید انجام شده از مزرعه سرخارگل استان
اصفهان (ایستگاه تحقیقاتی شهید یوسف فزوه و
نهادستان اداره جنگل و مرتع استان اصفهان) در
اردیبهشت ۱۳۹۷، بوته‌هایی با علائم مشکوک
ویروسی مشاهده گردیدند. برگ‌های دارای علائم
مشکوک و سالم این گیاه جمع آوری و در کیسه‌های
پلاستیکی جداگانه در شرایط خنک به آزمایشگاه
منتقل گردیدند. سپس در یخچال با دمای چهار درجه
سلسیوس تا انجام آزمایشات نگهداری شدند. جهت
تشخیص بیماری، از آزمون‌های تخصصی در
آزمایشگاه مرجع مولکولی بخش تحقیقات
گیاهپزشکی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و
منابع طبیعی استان خراسان رضوی استفاده شد.

استخراج آر.ان.ای کل (Total RNA) از برگ‌های
گیاه سرخارگل دارای علائم و سالم با استفاده از
محلول RNX-Plus (سیناکلون، ایران) بر اساس
دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. ساخت رشته
مکمل (cDNA) با استفاده از کیت Easy cDNA
Synthesis Kit طبق دستورالعمل شرکت سازنده
(پارس توس-ایران) صورت گرفت. واکنش
زنجیره‌ای پلیمرز با استفاده از آغازگرهای مستقیم

و تک همسانه‌ای (مونوکلونال) به آسانی ردیابی و
تعیین کمیت نمود. همچنین نسخه برداری معکوس-
واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (RT-PCR) به دلیل
حساسیت زیاد بطور گسترده‌ای در تشخیص و
بررسی‌های ویروسی بکار می‌روند. در تشخیص
ژن‌های موجودات دارای ژنوم آر.ان.ای مانند اغلب
ویروس‌های گیاهی، ابتدا با استفاده از آنزیم
(Reverse transcriptase) از ژنوم آر.ان.ای ویروس،
رشته مکمل یا cDNA ساخته شده و پس از آن، این
رشته مکمل به عنوان الگو یا هدف برای تشخیص
عامل بیماری‌زا مورد استفاده قرار می‌گیرد (Hull, 2013).

در بازدیدی که از مزارع سرخارگل استان اصفهان
صورت گرفت علائمی شبیه علائم ویروسی شامل:
موزائیک و بدشکلی برگ‌ها مشاهده گردید. در
سال‌های اخیر در بسیاری از کشورها شناسایی و
مدیریت بیماری‌های ویروسی گیاهی، به طور قابل
ملاحظه‌ای افزایش یافته است. با این حال در ایران،
مطالعات بسیار کمی، در این زمینه، بر روی گیاهان
دارویی صورت گرفته است. با توجه به اهمیت گیاه
دارویی سرخارگل در کشور و شناسایی عوامل
مختلف محدودکننده کشت این محصول، هدف از
انجام این تحقیق، شناسایی و ردیابی عامل بیماری در
نمونه‌های دارای علائم مشکوک ویروسی، در گیاه

CMVCPf/CMVCPPr در نمونه‌های دارای علائم و فقدان آن در گیاه سالم نشان‌دهنده آلودگی نمونه‌های مذکور به CMV بود.

ویروس موزائیک خیار باعث کاهش قابل‌توجه عملکرد بسیاری از محصولات زراعی در جهان می‌شود و دارای بیشترین دامنه میزبانی در بین ویروس‌های گیاهی است. اولین گزارش در مورد آلودگی گیاه سرخارگل به ویروس CMV، در سال ۱۹۶۴ از آلمان بود (Muehle & Schumann, 1964). در نیوزلند آلودگی به CMV، با علائم زردی و پیسه‌ای شدن برگ‌ها (Rangahau, 2001) و در ایالات‌متحده، با علائم لکه حلقوی و تغییر شکل برگ‌ها گزارش شده است (Beckerman, 2001). در ژاپن در سال ۱۹۹۳، در برگ‌های گیاهان سرخارگل آلوده به CMV علائم موزائیک مشاهده شد. این اولین گزارش در مورد بیماری ویروسی گیاه سرخارگل از ژاپن بود و نویسندگان این بیماری را به عنوان "بیماری موزائیک اکیناسه" نام‌گذاری کردند (Yamamoto et al. 1993). در ایتالیا علائم، CMV در سرخارگل بصورت موزائیک زرد، بدشکلی و تاولی شدن برگ‌ها، فشرده‌گی، تغییر شکل و ابلقی شدن گلبرگ‌ها گزارش شده است (Hudaib et al. 2001; Bellardi et al. 2002).

CMVCPf (5'- GCTTCTCCGCGAG-3') و
معکوس CMVCPPr

طراحی (5'- GCCGTAAGCTGGATGGAC-3')
شده توسط ریزوس و همکاران در سال ۱۹۹۲، برای تکثیر قسمتی از ژن پروتئین پوششی به طول ۸۶۷ جفت باز انجام شد. پروفایل دمایی واکنش شامل 94°C به مدت ۳ دقیقه بعنوان واسرشته سازی آغازین و بدنال آن، ۳۵ چرخه شامل 94°C به مدت ۳۰ ثانیه، 54°C به مدت ۴۰ ثانیه، 72°C به مدت ۱ دقیقه و یک چرخه انتهایی به مدت ۷ دقیقه در دمای 72°C بعنوان تکمیل پلیمریزاسیون بود. به منظور بررسی نتایج RT-PCR، پنج میکرولیتر از محصول پی سی آر در ژل آگارز یک درصد حاوی دو میکرولیتر از Green viewer (پارس توس - ایران)، الکتروفورز و در نهایت در دستگاه ژل داک عکس‌برداری شد.

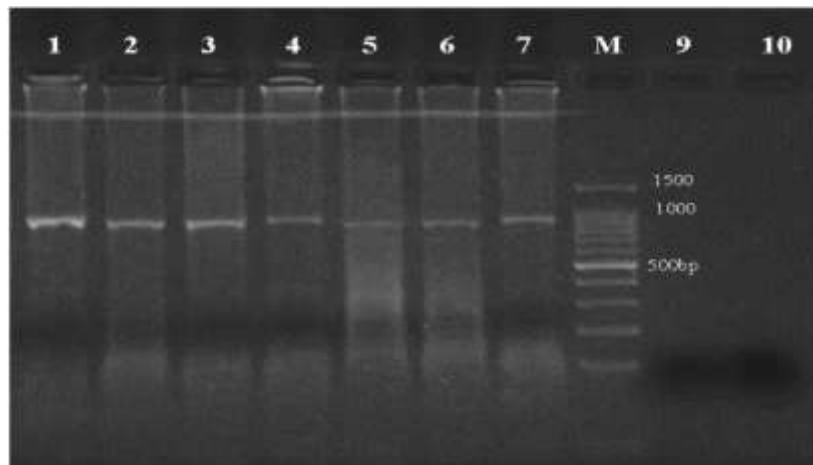
نتایج و بحث

در بوته‌های سرخارگل آلوده، علائم زردی، موزائیک، بدشکلی و تاولی شدن سطح برگ مشاهده شد. بوته‌ها، ظاهری زرد رنگ با برگ‌هایی تاولی شکل، نسبت به بوته‌های سالم داشتند (شکل ۱).

از نمونه‌های دارای علائم در آزمون RT-PCR قطعه ۸۶۷ جفت باز تکثیر شد، در حالی که از نمونه‌های سالم بانوی مشاهده نشد (شکل ۲). همانندسازی قطعه ۸۶۷ جفت باز، به وسیله آغازگرهای اختصاصی



شکل ۱. علائم موزائیک، زردی و بدشکلی و تاوولی شدن سطح برگ‌ها در گیاه سرخارگل آلوده به ویروس موزائیک خیار، جمع آوری شده از استان اصفهان



شکل ۲. الکتروفورز محصول نسخه‌برداری معکوس واکنش زنجیره‌ای پلیمرز بوت‌های سرخارگل آلوده به ویروس موزائیک خیار با استفاده از جفت آغازگر CMVCPf/CMVCPr بر روی ژل آگارز یک درصد. ستون ۱: شاهد مثبت، ستونهای ۲ تا ۷ نمونه‌های سرخارگل مبتلا به CMV، ستون M: مارکر ۱۰۰ جفت باز (سینا کلون)، ستون ۹ و ۱۰ شاهد منفی.

CMV باشد. این شته‌ها در مراحل انتهایی کشت سرخارگل در ماه‌های مرداد و شهریور مشاهده نشدند (Dikova et al. 2013).

در سال‌های ۲۰۰۶ تا ۲۰۰۹، در اوکراین بیماری ویروسی CMV بر روی گیاه سرخارگل اپیدمی شد (Koreneva, 2009; Mishchenko et al. 2009).

این مزارع ۷۵ درصد از گیاهان دارای علائم ویروسی از جمله کلروز و کاهش اندازه برگ‌ها بودند. با استفاده از آزمون الیزا و مطالعه خواص بیولوژیکی، فیزیکی و شیمیایی ویروس، ثابت شد که گیاهان مذکور آلوده به CMV هستند. این اولین گزارش از ابتلا سرخارگل به CMV در اوکراین بود (Koreneva, 2009). اولین گزارش از همراهی

CMV در گیاه سرخارگل، در ایران، از استان اصفهان در سال ۱۳۹۷ می‌باشد (Gharouni & Rastegar, 2019).

به جز تاثیر قابل توجهی که ویروس‌ها بر عملکرد سرخارگل و سایر گیاهان دارویی دارند (Dikova et al. 2009; Koreneva, 2013) ثابت شده است که این عوامل بیماری‌زا محتوای مواد فعال بیولوژیکی را در گیاهان دارویی کاهش می‌دهند. در ایتالیا، ویروس‌شناسان نشان دادند که CMV مقدار برخی از ترکیبات لیپوفیلی را در گیاهان سرخارگل کاهش می‌دهد (Hudaib et al. 2002; Bellardi et al. 2001).

در بلاروس سرخارگل به‌عنوان میزبان علفی برای ویروس CMV معرفی شد (Voinylo, 2006). در مجارستان CMV در آلودگی مخلوط با ویروس‌های (*Tomato spotted wilt Tobacco mosaic virus*) (*Potato virus Y virus*) گزارش شده است (Horváth et al. 2006). در چین نیز این بیماری از سرخارگل با علائم موزائیک زرد در برگ‌ها دیده می‌شود (Guifen et al. 2007). در سال ۲۰۰۹ در ایتالیا، گیاهان آلوده به CMV با علائم کوتولگی بوته، برگ‌های بدشکل با لکه‌های کلروتیک و نقوش حلقوی و گل‌های کوچک با شکستگی رنگ گلبرگ‌ها و ایجاد نوارهای کم‌رنگ روی گلبرگ‌های قرمز مشاهده شد (Pellati et al. 2011).

در بلغارستان، ۴۵/۵ درصد از گیاهان سرخارگل با علائم ویروسی به ویروس CMV آلوده بودند (Dikova et al. 2013). در تحقیقاتی که توسط Dikova و همکارانش انجام شد مشخص گردید، جوانه‌هایی که حاوی ویروس هستند و از ریشه‌های سرخارگلی که در سال اول، آلوده شده بودند، رشد می‌کنند، بیشترین میزان آلودگی را با ایجاد گیاهان ضعیف با علائم کوتولگی و برگ‌های لکه‌دار نشان می‌دهند. آنها نشان دادند شته جالیز (شته پنبه) *Aphis gossypii* Glover که در ماه‌های اردیبهشت، خرداد، تیر در مزارع سرخارگل وجود دارد، می‌تواند ناقل

دارویی و ارگان‌هایی که استانداردهای مربوط به کیفیت مواد اولیه خام را تنظیم می‌کنند باید مضرات و خسارت ویروس‌های گیاهی را نیز مورد توجه قرار دهند. تشخیص ویروس‌های گیاهی باید به‌عنوان یکی از اصول کلیدی برای به‌دست آوردن محصولات دارویی با عملکرد و کیفیت بالا قرار گیرد (Dunich & Mishchenko, 2015).

تاکنون ۱۰ ویروس گیاهی آلوده کننده گیاه سرخارگل، در دنیا گزارش شده است. این ویروس‌ها متعلق به خانواده‌های Bromoviridae، Potyviridae، Secoviridae، Bunyaviridae، Virgaviridae می‌باشند و تقریباً همه آن‌ها به‌عنوان ویروس‌های بسیار مضر گیاهی شناخته می‌شوند (Dunich & Mishchenko, 2015). علاوه بر این، از بین این ویروس‌ها، چهار ویروس (Tobacco *Tomato spotted wilt virus mosaic virus*، *Potato virus Y*، *Cucumber mosaic virus*) جزء ده ویروس مهم و اقتصادی در جهان قرار می‌گیرند (Scholthof et al. 2011).

شایع‌ترین راه انتقال ویروس موزائیک خیار، انتقال به وسیله شته‌ها می‌باشد. شته‌ها قادرند این ویروس را در مدت کوتاهی اخذ، نگهداری و تلقیح کنند و هنگام پروب برای یافتن میزبان تغذیه‌ای مناسب، از گیاهان آلوده به دست آورند. این ویروس‌ها دارای فاز

در مواد استخراج شده از گیاهان سرخارگل آلوده به CMV محتوای روغن کاهش یافته بود و باعث تغییرات معنی‌داری در کمیت ترکیب روغن می‌شود (Hudaib et al. 2002). مقدار پلی ساکارید نیز در گیاهان آلوده به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد (Koreneva, 2009).

در مطالعاتی که توسط پلاتی و همکاران بر روی محتوی متابولیت‌های ثانویه در سرخارگل آلوده به CMV و فیتوپلازما صورت گرفت، مشخص شد که غلظت اسید سیکوریک در گیاهانی که به وسیله هر دو پاتوژن آلوده شده‌اند، به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد (Pellati et al. 2011). در گیاهان سرخارگل آلوده به CMV غلظت اسیدهای هیدروسینامیک، کافئیک و سیکوریک کاهش یافته حتی گاهی اوقات غلظت آن‌ها به کمتر از مقدار تعیین شده توسط دارونامه‌ها می‌رسد و مقدار کلروفیل a، b و مجموع کارتنوئیدها در برگ‌های آلوده به ترتیب ۵۰/۵، ۶۸/۹ و ۴۱/۳ درصد پایین‌تر از گیاهان سالم است (Mishchenko et al. 2013).

امروزه یکی از اصول کلی گیاه‌درمانی مدرن، ایمنی و سلامت داروی گیاهی مورد استفاده است. به همین دلیل توجه سازمان جهانی بهداشت، کنترل آلودگی مواد خام دارویی به آفت‌کش‌ها، فلزات سنگین و سموم قارچی می‌باشد. بنابراین، تولیدکنندگان مواد

بایستی با احتیاط صورت پذیرد. پیشگیری از این بیماری پس از بروز پیدا کردن آن در مزرعه به علت فاصله زمانی کوتاه انتقال ویروس به گیاهان دیگر (توسط شته‌ها) سخت بوده و استفاده از آفت‌کش‌ها برای کنترل جمعیت شته‌ها به عنوان اصلی‌ترین ناقل این بیماری، روش اثبات شده برای کنترل بیماری در مزرعه نمی‌باشد زیرا وجود حتی یک حشره ناقل قادر است ظرف چند ثانیه ویروس را منتقل کند. همچنین در گیاهان دارویی استفاده از مواد شیمیایی علیه ویروس‌ها و ناقلین آنها قابل قبول نیست. اما از آنجایی که انتقال بیماری در اول فصل از طریق تغذیه حشرات بر روی علف‌های چند ساله آغاز می‌شود، مبارزه در مورد این گیاهان می‌تواند موثر باشد.

زمستان‌گذرانی CMV در بسیاری از علف‌های هرز چندساله، گل‌ها و گیاهان زراعی انجام می‌پذیرد. علف‌های چندساله در زمستان ویروس را در ریشه خود نگه می‌دارند و در بهار آن را به اندام رویشی خود انتقال می‌دهند که زمینه ابتلای دیگر گیاهان را به وسیله شته‌ها و دیگر ناقلین به وجود می‌آورد. ریشه‌کنی علف‌های میزبان این ویروس با توجه به گستردگی میزبان‌های آن بسیار سخت می‌باشد. اما کنترل برخی از علف‌های هرز چندساله میزبان CMV در نزدیکی مزارع، یکی از روش‌های پیشگیری از بیماری و کاهش احتمال وقوع آن می‌باشد. علف‌های

تاخیری بسیار کمی هستند و می‌توانند بلافاصله در تغذیه‌ی بعدی به گیاه میزبان دیگری منتقل کنند. انتقال ویروس از گیاه آلوده به شته به کمتر از یک دقیقه زمان نیاز داشته و ماندگاری ویروس در بدن شته به چندین ساعت می‌رسد (Brault et al. 2010). بنابراین اگرچه کنترل این ویروس از طریق مبارزه با ناقل غیر ممکن نیست، اما دشوار است. روش‌هایی که برای کنترل شته ناقل بیان شده عبارتند از: استفاده از مالچ‌های پلاستیکی براق یا فویل‌های آلومینیومی که باعث دور کردن حشره ناقل از محل مورد استفاده می‌گردد و در نتیجه باعث تغییر جهت پرواز حشره خواهد شد. علی‌رغم مفید بودن بکارگیری مالچ‌های با رنگ نقره‌ای در مزرعه یکی از مهمترین چالش‌های بکارگیری مالچ‌های پلاستیکی در مزارع جمع‌آوری آنها در پایان فصل زراعی می‌باشد. استفاده از پلاستیک‌های قابل تجزیه مستلزم صرف هزینه بالایی می‌باشد که هنوز در بخش کشاورزی عملیاتی نشده‌اند (Brown et al. 1993). محلول پاشی ترکیبات روغنی از جمله پارافین نیز یکی از روش‌های مبارزه با ناقلین است. در این روش یک لایه پارافین روی گیاه به وجود آمده و باعث ایجاد اختلال در انتقال ویروس توسط شته می‌شود. البته محلول پاشی روغن در طی فصل زراعی به دلیل احتمال سوختگی اندام هوایی در دمای بالای محیط

محسوب می‌شوند. تشخیص زود هنگام علائم بیماری یا حضور اولیه‌ی آفت (شته) یک نقطه کلیدی در زمینه‌ی مدیریت آفات ناقل و کنترل بیماری است. گیاهان مشکوک باید برای انجام آزمایش‌های تشخیصی به آزمایشگاه منتقل شوند و بلافاصله پس از تشخیص بیماری جهت جلوگیری از گسترش بیماری، حذف و معدوم گردند. بنابراین بازدید و پایش دائمی مزارع سرخارگل، توسط کارشناسان مجرب ضرورت دارد.

از آنجایی که در گیاهان دارویی استفاده از مواد شیمیایی علیه ویروس‌ها و ناقلین آنها قابل قبول نیست، به همین دلیل تشخیص به‌موقع آلودگی، اطلاعات مربوط به علائم بیماری و خصوصیات عامل بیماری‌زای مورد نظر، تنها روش پیشگیری از آلودگی‌های ویروسی است. نظارت دقیق، تشخیص به‌موقع بیماری و مدیریت آن در گیاهان دارویی، خطر مهاجرت ویروس‌ها به محیط‌های جدید توسط ناقلین جدید را که می‌تواند منجر به بیماری‌های جدی نه تنها در سرخارگل، بلکه سایر محصولات باغبانی یا زینتی شوند را کاهش می‌دهد.

با توجه به دامنه میزبانی وسیع CMV بسیاری از علف‌های هرز موجود در مزارع می‌توانند میزبان ثانویه این ویروس و از منابع نگهدارنده و پایداری آن در مزارع از فصلی به فصل دیگر باشند. اگرچه بسیاری

هرز به عنوان منبع بالقوه آلودگی می‌تواند تاثیر بسزایی در گسترش بیماری داشته باشد و مدیریت آنها در مزرعه و اطراف آن گسترش بیماری را کاهش می‌دهد.

بهداشت زراعی جهت کنترل و جلوگیری از انتشار CMV در مزارع، دارای اهمیت بالایی است. به دلیل قابلیت بالای انتقال مکانیکی این ویروس، بایستی حرکت ادوات کشاورزی و کارگران در داخل مزارع آلوده به ویژه در فصل خنک و مرطوب محدود گردد. همچنین بازرسی مزرعه و بررسی وجود علائم در گیاهان ضروری است. پس از برداشت محصول در پایان فصل زراعی، می‌توان با استفاده از چرای دام، بقایای گیاهی موجود در مزارع را از بین برد. با شخم نیز می‌توان بقایای گیاهی را در خاک مدفون و تجزیه کرد (Abou-jawdah et al. 2000).

یکی دیگر از روش‌های مهم کنترل بیماری‌های ویروسی، استفاده از ارقام مقاوم یا متحمل است. البته ویروس‌های جنس کوکوموویروس به علت جهش‌های مکرر و ایجاد نژادهای جدید و همچنین داشتن دامنه‌ی میزبانی وسیع، موجب شکست مقاومت ارقام می‌شوند (Zhang et al. 2006).

یافته‌های ترویجی

در مدیریت این بیماری ویروسی، پیشگیری و ریشه‌کنی دو روش مؤثر برای کنترل این بیماری

اما گیاهانی که به وسیله شته‌ها بعداً آلودگی را می‌گیرند، عملکرد بهتری دارند (هرچند بذر آنها آلوده می‌شود و نباید برای کشت مجدد از این بذور استفاده شود). در نهایت توصیه می‌شود با بهبود شرایط خاک، آبیاری منظم، کوددهی مناسب و تقویت گیاهان تأثیر ویروس‌ها را در کاهش عملکرد به حداقل رسانده شود. در سال‌های اخیر در بسیاری از کشورها شناسایی و مدیریت بیماری‌های ویروسی گیاهی، به‌طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافته است. با این حال در ایران، مطالعات بسیار کمی، در این زمینه بخصوص بر روی گیاهان دارویی، صورت گرفته است. در همین راستا، پیشنهاد می‌شود بررسی آلودگی نمونه‌های مذکور نسبت به سایر ویروسها و راهکارهای مدیریتی آنها در اولویت تحقیقاتی قرار گیرد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از زحمات آقایان دکتر هاشم کمالی، معاونت محترم توسعه مدیریت و منابع انسانی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی و دکتر محمدرضا باقری، ریاست محترم بخش تحقیقات گیاهپزشکی استان اصفهان، که هماهنگی و امکانات لازم برای بازدید و نمونه‌برداری را فراهم نمودند، صمیمانه قدردانی می‌شود.

از علف‌های هرز علائمی از خود نشان نمی‌دهند و فاقد علائم هستند. لذا مبارزه با علف‌های هرز در کنترل بیماری ناشی از CMV اهمیت ویژه‌ای دارد و گسترش بیماری را کاهش می‌دهد.

انتقال مکانیکی ویروس به وسیله کارگران نیز دیگر راه انتشار این بیماری می‌باشد. تمیز و ضدعفونی کردن ابزار آلات، ماشین‌ها و دست‌ها می‌تواند از انتقال مکانیکی و انسانی این ویروس جلوگیری کند. بنابراین توصیه می‌شود که گیاهان مرطوب لمس نشوند و به‌خصوص پس از دست زدن به گیاهان آلوده، دست‌ها با آب و صابون شسته شوند. عدم استفاده از یک دستکش و لباس، برای برداشت کل مزرعه و تقسیم بندی مزرعه، به بخش‌های مجزا نیز می‌تواند از گسترش بیماری در یک مزرعه آلوده جلوگیری کند.

انتخاب بذر عاری از ویروس در گیاهانی که ویروس در آنها از طریق بذر انتقال می‌یابد بسیار مهم می‌باشد با این عمل آلودگی اولیه بعد از کشت به وجود نمی‌آید. ویروس‌های موزائیک معمولاً بذرزاد هستند. حتی یک دانه آلوده نیز می‌تواند مشکل‌زا باشد، زیرا ویروس می‌تواند از گیاه آلوده به گیاهان اطراف آن (توسط شته ناقل) منتقل شده و در نهایت می‌تواند گسترش یابد. گیاهانی که از بذر آلوده رشد می‌کنند، معمولاً کوتاه، ضعیف و عملکرد کمی دارند،

Reference

- Abou-Jawdah, Y., Sobh, H., El-Zammar, S., Fayyad, A., Lecoq, H., 2000. Incidence and management of virus diseases of cucurbits in Lebanon. *Crop Protection* 19: 217-224.
- Beckerman, T., 2001. *Cucumber mosaic virus*. *Yard & Garden Line News*. Vol. 3 No. 14: 21-23.
- Bellardi, M.G., Rubies Autonell, C., Hudaib, M., Biffi, S., 2001. *Echinacea purpurea* L. Influence of *Cucumber mosaic virus* (CMV) on the mother tincture. *Natural* 1; 74-7.
- Brault, V., Uzest, M., Monsion, B., Jacquot, E. and Blanc, S., 2010. Aphids as transport devices for plant viruses. *Comptes Rendus Biologies*, 333: 524-538.
- Brown, K. E., Anderson, S. M., and Young, N. S., 1993. Erythrocyte pantigen: cellular receptor for B19 *Parvovirus*. *Journal of Virology*, 262: 114-117.
- Bruneton, J., 1995. *Pharmacognosy, Phytochemistry and Medicinal Plants*, Lavoisier. Publ., Paris.
- Chevallier, A., 1996. *The Encyclopedia of Medicinal Plants*. Dorling Kindersley Ltd. Publ., London.
- Dikova, B., Djourmanski, A., Lambev, H., 2013. Establishment of economically important viruses on *Echinacea purpurea* and their influence on the yield. In: *Proceedings of the conference «Innovative aspects to coneflower study»*. Ed. Pospelov S. Poltava: Dyvosvit. 36-45.
- Doolittle, S.P., 1916. A new infectious mosaic disease of cucumber. *Phytopathol.* 6:145-147.
- Dunich, A.A., and Mishchenko, L.T., 2015. Purple coneflower viruses: species diversity and harmfulness *Biopolymers and Cell*. Vol. 31. No. 1. 15-28
- Francki, R.I.B., and Hatta, T., 1980. *Cucumber mosaic virus*: variation and problems of identification. *Acta Horticulturae*. 110: 167-174.
- Gharouni Kardani, S., Rastegar, M., 2019. First report of *cucumber mosaic virus* infection, in Purple coneflower (*Echinacea purpurea*) in Iran. 2nd international conference on Medicinal Plants Organic Farming Natural and Medicinal Materials, Mashhad University of Medical Sciences. Iran (in Persian).
- Gildow, F.E., Shah, D.A., Sackett, W.M., Butzler, T., Nault, B.A., and Fleischer, S.J., 2008. Transmission efficiency of *Cucumber mosaic virus* by aphids associated with virus epidemics in snap bean. *Phytopathology* 98: 1233-1241.
- Gladisheva, O.N., 1995. Experimental studies on production and processing technology, and establishment of raw material uses and seed plantation of *E. Purpurea* under samara region. *The Russian academy of agricultural sciences*, 214 - 3.
- Guifen, L., Shuifang, Z., Qun, Z., Zongwei, S., Yongjiang, Z., Mingfu, L., 2007. Identification of *Cucumber mosaic virus* isolated from *Echinacea purpurea*. *Plant protection* 1.
- Horváth, J., Baracsi, É., Takács, A., Kazinczi, G., Gáborjányi, R., Krajczinger, R., 2006. Virus infection of ornamental plants in Hungary. *Cereal Res Commun.* 34(1):485-88.
- Hudaib, M., Fiori, J., Grazia Bellardi, M., Rubies-Autonell, C. and Cavrini, V., 2002. GC- MS analysis of the lipophilic principles of *Echinacea purpurea* and evaluation of cucumber

- mosaic cucumovirus (CMV) infection. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 29: 1053-1060.
- Hudson, J.B., 2012. Applications of the phytomedicine *Echinacea purpurea* (Purple Coneflower) in infectious diseases. J Biomed Biotechnol. 769-896.
- Hull, R., 2013. Matthews Plant Virology. 5th Edition. Academic press, 1118 pp.
- Jacquemond, M., 2012. *Cucumber mosaic virus*. Advances in Virus Research 84, 439-50416.
- Koreneva, A.A., 2009. Biological properties of medicinal plants viruses. PhD thesis, Taras Shevchenko National University of Kyiv. 22 p.
- Matthews, R.E.F., 1991. *Plant Virology*. 3rd edition. Academic Press, San Diego, California.
- Mishchenko, L.T., Dunich, A.A., Dashchenko, A.V., Zagumennikova, T.N., Sidel'nikov, N.I., 2013. Viral infections of some medicinal plants and its effect on content of biologically active substances. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 9:20–5.
- Mishchenko, L.T., Korenieva, A.A., Molchanets', O.V., Boïko, A.L., 2009. Detection of viral infection pathogens in medicinal plants grown in Ukraine. Mikrobiol Z.;71(3):55–61.
- Muehle, E., Schumann, K., 1964. On the presence of cucumber mosaic virus (Marmor cucumeris H.) on *Echinacea purpurea* (L.) Moench. Pharmazie. Vol. 19:417–21.
- Palukaitis, P., Roossinck, M.J., Dietzgen, R.G. and Francki, R.I.B., 1992. *Cucumber mosaic virus*. Advanced Virus Research, 41: 281–348.
- Pellati, F., Epifano, F., Contaldo, N., Orlandini, G., Cavicchi, L., Genovese, S., Bertelli, D., Benvenuti, S., Curini, M., Bertaccini, A., Bellardi, M.G., 2011. Chromatographic methods for metabolite profiling of virus- and phytoplasmainfected plants of *Echinacea purpurea*. J Agric Food Chem. 59(19):10425–34.
- Rangahau, M.K., 2001. Echinacea-The purple coneflowers. Crop & Food Research. Vol.33:12–3.
- Roossinck, M.J., 2002. Evolutionary history of Cucumber mosaic virus deduced by phylogenetic analyses. Journal of Virology 76:3382-3387.
- Scholthof, K.B., Adkins, S., Czosnek, H., Palukaitis, P., Jacquot, E., Hohn, T., Hohn, B., Saunders, K., Candresse, T., Ahlquist, P., Hemenway, C and Foster, G.D., 2011. Top 10 plant viruses in molecular plant pathology. Mol Plant Pathol. Vol. 12. No. 9. 938–54.
- Voinylo, N.V., 2006. Some aspects of protection of floral and ornamental plants against viral diseases in botanical gardens. Zashita Rasteniy. Minsk. Vol. 30:190–1.
- Yamamoto, T., Ishii, M., Sasaya, T., Iwasaki, M., 1993. Mosaic disease of Echinacea (*Echinacea purpurea*, Compositae). Proc Assoc Pl Protec Shikoku. 28:49–53.
- Zhang, W., Yuan, Y.R., Pei, Y., Lin, S.S., Tuschl, T., Patel, D.J., and Chua, N.H., 2006. *Cucumber mosaic virus*-encoded 2b suppressor inhibits *Arabidopsis argonaute1* cleavage activity to counter plant defense. Genes Development Journal, 20(23): 3255–3268.

Identification and management of *Cucumber mosaic virus* in Purple coneflower (*Echinacea purpurea*) Farms

S. Gharouni Kardani ^{1*}, M. Rastegar ²

1. Assistant Professor, Plant Protection Research Department, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, (AREEO), Mashhad, Iran. (Corresponding author)
2. Assistant Professor, Plant Protection Research Department, Isfahan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, (AREEO), Isfahan, Iran.

Received: January 2019

Accepted: April 2019

Abstract

Gharouni Kardani, S., Rastegar, M. Identification and management of Cucumber mosaic virus in Purple coneflower (*Echinacea purpurea*) Farms.

Iranian Medicinal Plants Technology. Vol 02, No. 01, 2019. Page 03 :34-46(in Persian)

Echinacea purpurea (L.) is one of the most important and well-known medicinal plants in the world. This powerful herb has antibacterial, antifungal, and antiviral properties. Viral diseases have become a real problem in medicinal plants cultivation. Purple coneflower could be infected by 10 different viruses and almost all of them, such as *Cucumber mosaic virus* (CMV), are considered to be highly harmful and economically effective plant viruses. During a survey in 2018, purple coneflower plants with yellow mosaic, mottling and malformation symptoms were observed in some regions of Isfahan province. Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) was conducted by using specific primers and developed to detect *cucumber mosaic virus* (CMV) in collected samples. Amplification of 867 bp fragment in PCR confirmed the presence of a CMV in symptomatic plants. No band was amplified from healthy control. Cultivation of medicinal plants requires the safety management, in case the application of the chemical substances against the viruses and their vectors is unacceptable. That is why well-timed detection of plant viruses and information about symptoms of diseases, and the main properties of these pathogens is almost the only method of prevention of the viral infections. Therefore, permanent virological inspections, well-timed diagnostics, use of healthy seeds, removal of contaminated plants, is necessary. In addition, weeds, as a potential source of contamination, can have a significant effect on the spread of disease, hence their management is crucial to ensure the prevention and reduction of the risk of the plant diseases.

Keywords: Purple coneflower, Aphid vector, Medicinal Plants, Disease management, *Cucumber mosaic virus*

Email address of the corresponding author: saragharooni@yahoo.com