تاثیر عصاره چند گونه جلبک دریایی روی ویروس وای سیب‌زمینی در گیاه توتون

معصومه خود[۱]، سعید نصراله نژاد[۱،✉]، زینب زارع[۱]، بایرام محمد قرنجیک[۲]

۱- به‌ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار و دانش‌آموخته دکتری بیماری شناسی گیاهی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گلستان، ایران، ۲- محقق مهندسی منابع طبیعی، مرکز تحقیقات ذخایر آبزیان آب‌های داخلی (گرگان)، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور.

چکیده

یکی از مهمترین ویروس‌های توتون که از پراکنش جهانی برخوردار است، ویروس وای سیب‌زمینی (*Potato Virus Y*, PVY) می‌باشد. به‌منظور بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره آبی و اتانولی سه گونه جلبک قرمز دریایی (*Digenea simplex* (Wulfen) C.Agardh، *Gracilaria corticata* (J.Agardh) J.Agardh و *Padina australis* Hauck) بر روی شدت و غلظت نهایی ویروس وای سیب‌زمینی (Accession: MF688631.1) و میزان کلروفیل گیاه توتون، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در سال زراعی ۱۳۹۶-۱۳۹۷ در شرایط گلخانه در شهرستان گرگان انجام شد. نتایج نشان داد که اثر نوع جلبک و نوع عصاره اثر معنی‌داری بر شدت علائم، غلظت نهایی ویروس و میزان کلروفیل در بوته توتون داشت. به‌طوریکه جلبک *P. australis* بیشترین اثر را بر کاهش غلظت ویروس (شدت جذب نوری برابر ۱/۹۴۳) و شدت علائم بیماری (۲/۹۳۷) نشان داد. همچنین بیشترین مقادیر کلروفیل (۲۱/۲۷۳) نیز در این تیمار مشاهده گردید. نتایج کلی این تحقیق نشان داد میزان تأثیر عصاره‌ها، روی کاهش غلظت ویروس در میزبان توتون تحت تأثیر زمان کاربرد، نوع جلبک و نوع عصاره (آبی یا اتانولی) می‌باشد

واژه‌های کلیدی: مهار زیستی، *Padina australis*، شدت بیماری، میزان کلروفیل، عصاره اتانولی

The Effect of Extract of Several Seaweeds on *Potato Virus Y* in Tobacco

M. KHOD[2], S. NASROLLAH NEJAD[*1] Z. ZARE[3] AND B. M. QARNJIK[4]

1- PhD Student, Associate Professor, and PhD Graduate in Plant Pathology, Department of Plant Protection, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Golestan, Iran, respectively. 2- Researcher in Natural Resources Engineering, Inland Aquatic Resources Research Center (Gorgan), National Institute of Fisheries Sciences.

Abstract

One of the most important tobacco viruses with a global distribution is Potato Virus Y (PVY). To investigate the effect of different concentrations of aqueous and ethanolic extracts of three species of red marine algae (Digenea simplex (Wulfen) C.Agardh, Gracilaria corticata (J.Agardh) J.Agardh and Padina australis Hauck) on the severity and final concentration of Potato Virus Y (Accession: MF688631.1) and the chlorophyll content of tobacco plants, an experiment was conducted in a completely randomized design with four replications in the 2017-2018 growing season under greenhouse conditions in Gorgan city. The results showed that the type of algae and the type of extract had a significant effect on the severity of symptoms, the final concentration of the virus, and the amount of chlorophyll in tobacco plants. Thus, the algae P. australis showed the greatest effect on reducing the virus concentration (light absorption intensity equal to 1.943) and the severity of the disease symptoms (2.937). The highest chlorophyll content (21.273) was also observed in this treatment. The overall results of this study showed that the effect of the extracts on reducing the concentration of the virus in the tobacco host was influenced by the time of application, the type of algae, and the type of extract (aqueous or ethanolic).

Keywords: Bio inhibition, *Padina australis*, disease severity, chlorophyll content, Ethanolic extract.

✉ **E–mail: snasrollanejad@gau.ac.ir**

مقدمه:

توتون یکی از گیاهان مهم صنعتی است که در اقتصاد و درآمد کشورهای تولیدکننده نقش بسیار مهمی دارد. ویروس وای سیب‌زمینی (PVY; *Potato Virus Y*) به جنس پوتی‌ویروس و خانواده پوتی‌ویریده تعلق دارد و یکی از عوامل مهم تأثیرگذار بر روی کیفیت و عملکرد توتون می‌باشد (Hull, 2002). میزان خسارت این ویروس بسته به عوامل مختلف ازجمله ژنوتیپ توتون و زمان وقوع آلودگی متفاوت است. میزان خسارت این بیماری در توتون بین ٤٠ تا ١٠٠ درصد گزارش شده است (Reynolds, 2011). بهترین و موثرترین روش برای کاهش خسارت این ویروس روی توتون، اصلاح و تولید ارقام مقاوم یا متحمل نسبت به این بیماری است، که مستلزم صرف وقت و هزینه‌های زیادی است (Shazdehahmadi and Salavati Meybodi, 2016). از طرفی استفاده از سموم شیمیایی برای کنترل ناقلین بیماری موجب به خطر افتادن سلامتی انسان، افزایش آلودگی محیط‌زیست، آثار سمی بر دیگر موجودات غیر هدف و توسعه مقاومت در بین عوامل بیماری‌زا و آفت‌ها می‌شود. بنابراین، در سال‌های اخیر استفاده از روش‌های سازگارتر با محیط‌زیست و حفظ زیست¬بوم¬ها مثل بکار بردن عصاره بعضی جلبک‌ها از اهمیت خاصی برخوردار شده است. تلاش در خصوص خواص ضد میکروبی عصاره‌های جلبک دریایی از اواسط قرن گذشته انجام شد (Zhao *et al*., 2016). پتانسیل بالای ضدمیکروبی، ضدقارچی و ضدویروسی ارگانیسم‌های دریایی ازجمله جلبک‌ها به‌عنوان منبع غنی از ترکیبات فعال بیولوژیکی رویکرد تازه‌ای را برای دستیابی به ضدمیکروب‌های جدید موجب شده است (Poonam, 2015). پلی‌ساکاریدهای جلبک دریایی، به‌ویژه پلی‌ساکاریدهای مربوط به جلبک‌های قهوه‌ای ازجمله پلی‌سولفات‌ها، فعالیت‌های ضدویروسی موثری دارند (Morya *et al*., 2012). ترکیبات طبیعی با پتانسیل آنتی‌اکسیدانی در جلبک‌ها شامل پلی‌فنل‌ها، کاروتنوئیدها، توکوفرول‌ها، ترپن‌ها، اسید اسکوربیک، الکالوئیدها، گالیک اسید، ترکیبات استروئیدی، اسیدهای چرب، ترکیبات آروماتیک نظیر آلکان‌ها و کتون‌های هالوژن و نهایتاً پلی سولفات‌های مختلف می‌باشد (Huang *et al*., 2016). ترکیباتی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ضدویروسی و ضد باکتریایی در جلبک‌های قهوه‌ای، قرمز و سبز شناسایی شده است (Cox *et al*., 2010). آلژینات، یک پلی‌ساکارید فراوان از جلبک‌های قهوه‌ای است، که توانسته ویروس ایکس سیب‌زمینی (PVX) را در غلظت ١٠ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به میزان ٩٥ درصد مهار

کند (Pardee *et al*. 2004). همچنین ناگورسکایا و همکاران (Nagorskaia *et al*., 2008) دریافتند که کاپا/بتا کاراژینان از جلبک قرمز دریایی *Tichocarpus crinitus* (S.G.Gmelin) Ruprecht می‌تواند غلظت ویروس یا تکثیر TMV را در برگ‌های توتون و تنباکو رقم زانتی کاهش دهد. پاردی و همکاران (Pardee *et al*., 2004) آثار ضد ویروسی عصاره اتانولی ۳۰ گونه جلبک دریایی را در برابر ویروس ایکس سیب‌زمینی مورد آزمایش قرار دادند که از این آزمایش ۵ گونه از شاخه Heterokontophyta شامل (*Alaria marginata* Postels & Ruprecht، *Fucus gardneri* Silva، *Codium fragile* (Suringar) Hariot، *Fragilaria oceanica* Cleve، *Egregia menziessi* (Turner) Areschoug با غلظت ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر نرخ بازدارندگی بیش از ۸۰ درصد را نشان دادند. هدی و وزیری (Waziri, 2015) اثر بازدارندگی چندین گونه جلبک دریایی را روی ویروس‌های توتون گزارش کردند. طبق بررسی پونام (Poonam, 2015) عصاره الکلی جلبک *Caulerpa taxifolia* (M.Vahl) C.Agardh روی ویروس نکروز توتون دارای اثر مهارکنندگی بود. با توجه به اهمیت این بیماری در ایران به‌خصوص در استان گلستان و با وجود مخاطرات مرتبط با کاربرد ترکیبات شیمیایی، این پژوهش در جهت یافتن راه مؤثر برای کنترل بیماری مذکور بسیار ضروری به نظر می‌رسد.

روش بررسی

تکثیر ویروس وای سیب‌زمینی (PVY)

گیاهچه‌های توتون رقم وایت بارلی (White Burley) در مرحله دوبرگی، از مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش تهیه و به‌عنوان میزبان PVY جهت تکثیر ویروس وای سیب‌زمینی (Accession: MF688631.1) در شرایط گلخانه کشت شد و مایه‌زنی مکانیکی بوته‌ها انجام گرفت. در این پژوهش، از یک جدایه ویروس وای سیب‌زمینی (Accession: MF688631.1) که از گیاه توتون به‌دست آمده و در آزمون‌های صورت گرفته خلوص آن مشخص شده بود، استفاده شد (Damirdagh and Shephared, 1970). پس از ظهور علائم موزاییک در بوته‌ها، از آزمون الایزای غیرمستقیم بر اساس روش کلارک و آدامز (Clark and Adams, 1977) برای تأیید ویروس وای سیب‌زمینی استفاده شد. خالص‌سازی ویروس وای سیب‌زمینی با استفاده از پلی‌اتیلن گلیکول (Polyethylenglycol 6000) و بر اساس روش بتمن و چانت (Bateman and Chant, 1979) صورت گرفت. پس از این

مرحله، میزان جذب آموده خالص شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول‌موج ۳۰۰ تا ۳۲۰ نانومتر مورد سنجش قرار گرفت.

جمع‌آوری و آماده‌سازی نمونه‌ها

جلبک‌های مورد مطالعه در این تحقیق از بندرگاه و سواحل روستای هلیله از توابع شهر بوشهر و در امتداد دریای خلیج‌فارس در مهرماه ۱۳۹۷ جمع‌آوری شدند. نمونه‌ها پس از حذف آلودگی توسط شستشو با جریان آب، جهت شناسایی به مرکز تحقیقات ذخایر آبزیان آب‌های داخلی– گرگان منتقل و توسط کارشناسان مؤسسه، سه گونه جلبک شامل *Digenea simplex*، *Gracilaria corticata* و *Padina australis* شناسایی شدند. نمونه‌های جلبک به مدت ٤ روز در دمای ٦٠ درجه در آون خشک شدند. سپس نمونه‌ها به‌وسیله آسیاب خرد گردیده به‌طوری که بافت‌های آسیاب شده از الک یک مش عبور کند (Cho *et al*., 2011). پس از آن نمونه‌ها تا زمان استفاده در دمای ۲۰– درجه سلسیوس نگهداری گردیدند.

در این آزمایش عصاره‌گیری از نمونه‌ها به روش غوطه‌وری با استفاده از حلال‌های آب و الکل (اتانول ۷۰ درصد) طی دو مرحله توسط دستگاه شیکر انجام شد. بدین صورت که مقدار ۲۰ گرم از بافت آسیاب شده به ارلن های ۲۵۰ سی‌سی منتقل و سپس به‌طور جداگانه ۲۰۰ میلی‌لیتر اتانول (برای تهیه عصاره الکلی) و ۲۰۰ میلی‌لیتر آب (برای تهیه عصاره آبی) به آن‌ها اضافه گردید و به مدت ٤٨ ساعت در دمای ۲۰ درجه سلسیوس روی شیکر قرار داده شد. هر ١٦ ساعت محتویات ارلن به مدت ۲۵ دقیقه به هم زده شده و در پایان محتویات ارلن به‌وسیله کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف و مایع صاف شده در دمای محیط قرار گرفت. تکرار عملیات فوق با تفاله باقیمانده و همان مقدار آب و اتانول ۷۰ درصد استفاده شده در مرحله قبل، اما این بار به مدت ۱۲ ساعت انجام شد. در پایان به‌منظور جداسازی حلال آلی از عصاره‌ها، عملیات تبخیر اتانول و استحصال عصاره در زیر هود انجام گرفت. سپس تا زمان استفاده در ظروف تیره‌رنگ و در دمای چهار درجه سانتی‌گراد یخچال نگهداری شد (Obied *et al*., 2005).

آزمون اثر ضد ویروسی عصاره‌ها

پس از کشت بوته‌های گیاه توتون رقم وایت بارلی به‌عنوان میزبان ویروس وای سیب‌زمینی در شرایط گلخانه، غلظت‌های صفر، ۱۰ و ۲۰ درصد عصاره‌های الکلی و آبی به‌دست‌آمده از نمونه‌ها

۲٤ ساعت قبل از تلقیح ویروس بر روی بوته‌ها تیمار شد. برگ گیاهان شاهد نیز به همین ترتیب به‌جای محلول پاشی با عصاره‌ها با آب مقطر محلول پاشی گردید. از بوته‌های آلوده توتون به ویروس PVY با استفاده از بافر فسفات نمکی (PBS) با pH=۷/٤ به نسبت حجمی/وزنی ۱:۱ عصاره‌گیری و با استفاده از پودر کربوراندوم روی گیاهان توتون تیمارشده با عصاره‌ها مایه‌زنی شد.

نمونه‌برداری و تجزیه و تحلیل داده‌ها

این آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار فاکتور شامل نوع جلبک (سه سطح)، روش عصاره‌گیری (در دو سطح) و غلظت (در سه سطح) همراه با شاهد با چهار تکرار انجام گرفت. یک ماه پس از تلقیح ویروس و اعمال تیمارها، برگ‌های دوم، سوم و چهارم (جوان‌ترین برگ‌ها) هر بوته از رأس گیاه چیده شد (El-sawy *et al*. 2017) و روش کانورس و مارتین (Converse and Martin, 1990) جهت آزمون الایزا غیرمستقیم استفاده شد. با استفاده از دستگاه کلروفیل سنج مدل SPAD 502 میزان کلروفیل هر بوته اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری شدت علائم بیماری ایجاد شده در گیاهان آلوده، از مقیاس معتبر وریر و همکاران (Verrier *et al*., 2001) و معادله $DS(\%)= \sum Xi\ ni/\ NXmax$ (El-sawy *et al*., 2017) استفاده گردید، که در این معادله، xi= درجه سطح آلودگی، ni= تعداد برگ‌های بیمار با هر درجه سطح آلودگی و N= تعداد کل برگ‌های مورد بررسی می‌باشد. مقیاس هفت طبقه‌ای مورد استفاده جهت اندازه‌گیری شدت بیماری شامل صفر (بدون علائم موزائیک)، ۱ (موزائیک خفیف کمتر از ۲۰ درصد برگ‌ها)، ۳ (موزائیک ٤۰-۲۰ درصد برگ‌ها)، ۵ (موزائیک شدید ٦۰-٤۰ درصد برگ‌ها)، ۷ (موزائیک ۱۰۰ درصد برگ‌ها به همراه بدشکلی خفیف)، ۹ (موزائیک ۱۰۰ درصد برگ‌ها به‌همراه بدشکلی شدید و باریک شدن برگ‌ها) و ۱۱ (علائم نکروز رگبرگی در بوته‌ها) بود (Verrier *et al*., 2001). در این آزمایش داده‌های خام با نرم‌افزار SAS version 9.1 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و با استفاده از آزمون LSD در سطح پنج درصد هرگونه تفاوت معنی‌دار بین میانگین تیمارها مشخص شد.

نتایج

آزمون الایزا

در این آزمایش تمام نمونه‌های مایه‌زنی شده به ویروس وای سیب زمینی پس از یک ماه در تست الایزا دارای واکنش مثبت بودند. در آزمون الایزا عصاره گیاه سالم نیز مقداری جذب نشان می‌داد، به همین دلیل، برای تعیین نمونه‌های آلوده و مشخص کردن تیتر ویروس، نمونه‌ای را آلوده در نظر گرفتیم که میزان جذب نوری آن حداقل سه برابر میانگین جذب نوری گیاهان سالم در همان رقت باشد، یا به‌عبارتی میزان جذب آن برابر و یا بیشتر از $3\bar{X}$ +Sd باشد، که در این فرمول $\bar{X}$ میانگین جذب گیاهان سالم و Sd انحراف معیار جذب در این گیاهان است.

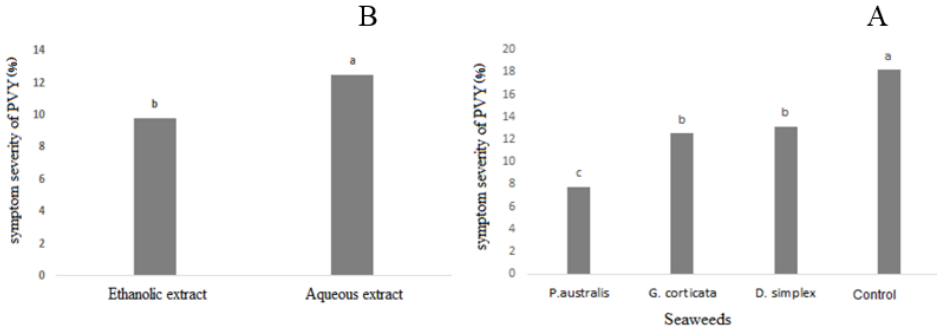
شدت علائم ویروس وای سیب‌زمینی

بررسی نتایج تجزیه واریانس نشان داد، اثر اصلی نوع جلبک و نوع عصاره استفاده شده (آبی و الکلی) در سطح احتمال یک درصد شدت علائم ویروس وای سیب‌زمینی را تحت تأثیر قرارداد. همچنین این نتایج نشان داد اثر غلظت و به اثر متقابل آن‌ها بر شدت علائم ویروس معنی‌دار نبود (جدول ۱).

محل قرارگیری جدول شماره ۱:

مقایسه میانگین اثر نوع جلبک مورد استفاده نشان داد که بین تیمارها در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌دار وجود دارد. کمترین شدت علائم مربوط به عصاره جلبک *P. australis* با میانگین ۷/۷۹ درصد و بیشترین شدت علائم پس از شاهد مربوط به عصاره جلبک *D. simplex* با میانگین ۱۳/۱۵ درصد می‌باشد. عصاره جلبک *P. australis* موجب کاهش ۵۵/۰۶ درصدی شدت علائم ویروسی نسبت به شاهد گردید. عصاره دو جلبک *D. simplex* و *G. corticata* بدون اختلاف معنی‌دار در یک گروه آماری قرار گرفتند (شکل ۱ الف).

مقایسه میانگین اثر تیمار نوع عصاره مورد استفاده نشان داد که استفاده از عصاره‌های اتانولی جلبک‌ها در مقایسه با عصاره آبی موجب بیشترین کاهش شدت علائم ویروس می‌شود. در این پژوهش میانگین شدت علائم در تیمار استفاده از عصاره‌ی اتانولی و عصاره آبی به ترتیب ۹/۸۱ و ۱۲/۵۰ درصد به‌دست آمد (شکل ۱ ب).



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر تیمار نوع جلبک (الف) و روش عصاره‌گیری (ب) بر شدت علائم ویروس وای سیب‌زمینی روی توتون

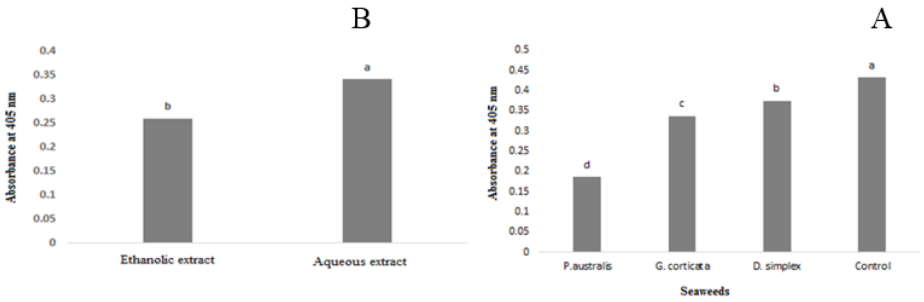
Fig. 1. Comparison of the mean effect of algal type treatment (A) and the type of extraction methods (B) on the severity of the symptoms of PVY on tobacco

غلظت نهایی ویروس وای سیب‌زمینی

نتایج جدول یک نشان داد اثر نوع جلبک و روش عصاره‌گیری (اتانولی و آبی) بر میزان غلظت نهایی ویروس در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار می‌باشد. هیچ اختلاف معنی‌داری بین اثر غلظت مورد استفاده، مشاهده نشد بااین‌حال با افزایش غلظت عصاره‌ها میزان غلظت نهایی ویروس کاهش یافت. بر اساس این نتایج اثر متقابل آن‌ها در رابطه با این صفت معنی‌دار نبود.

مقایسه میانگین اثر نوع جلبک مورد استفاده نشان داد که هر کدام از این تیمارها در یک گروه آماری مجزا قرار گرفتند و جلبک‌های *P. australis* و *G. corticata* به ترتیب با داشتن میانگین جذب نوری ۰/۱۸٦و ۰/۳۳۷ دارای کمترین میزان غلظت نهایی ویروس بودند. بیشترین میزان غلظت ویروس بعد از شاهد منفی مربوط به جلبک *D .simplex* بود (شکل ۲ الف).

مقایسه میانگین اثر نوع عصاره اتانولی و آبی نشان داد که عصاره‌ی اتانولی در مقایسه با عصاره آبی بیشترین کاهش را در میزان غلظت نهایی ویروس از خود نشان داد و عصاره اتانولی موجب کاهش ۲٤/۰٤ درصدی میزان غلظت نهایی ویروس نسبت به عصاره آبی گردید (شکل ۲ ب).



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر نوع جلبک (الف) و روش عصاره‌گیری (ب) بر میزان جذب در آزمون الایزا

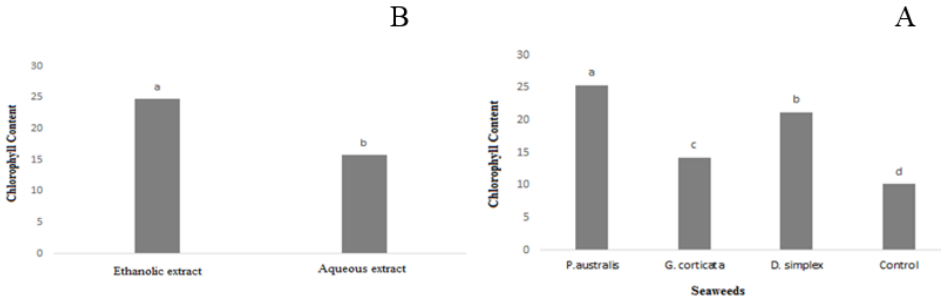
Fig. 2. Comparison of the average effect of algal type treatment (A) and the type of extraction methods (B) on the mean of absorbance of ELISA

میزان کلروفیل

نتایج این آزمایش نشان می‌دهد که اثر نوع جلبک و نوع عصاره، میزان کلروفیل برگ‌های گیاه توتون را در سطح احتمال یک درصد تحت تأثیر قرار دادند. سایر عوامل آزمایشی در رابطه با این صفت بدون اختلاف معنی‌دار بودند (جدول ۱).

مقایسات میانگین اثر نوع جلبک نشان می‌دهد (شکل ۳ الف) جلبک با میانگین (۲۵/۳۵) موجب افزایش ۵۹/۹۶ درصدی میزان کلروفیل نسبت به تیمار شاهد (عدم محلول پاشی) گردید. کمترین میزان کلروفیل گیاهچه‌های توتون بعد از شاهد مربوط به محلول پاشی عصاره جلبک *G. corticata* با میانگین ۱۴/۲۷ است. عصاره جلبک *D .simplex* در گروه آماری بعدی قرار گرفت.

همچنین نتایج مربوط به نوع عصاره‌ها نشان می‌دهد که اثر این فاکتور نیز بر میزان کلروفیل در سطح احتمال یک درصد دارای اختلاف معنادار می‌باشد (جدول ۱ و شکل ۳ ب). اما فاکتور غلظت و اثرات متقابل آن‌ها برای این صفت بدون اختلاف معنی‌دار بود (جدول ۱). بااین‌حال با افزایش غلظت، میزان کلروفیل گیاهچه‌های تحت تیمار افزایش یافته و بیشترین میزان کلروفیل مربوط به محلول‌پاشی با غلظت ۲۰ درصد می‌باشد.



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر نوع جلبک (الف) و اثر روش عصاره‌گیری (ب) بر میزان کلروفیل در برگ توتون آلوده به PVY

Fig. 3. Comparison of the average effect of algal type treatment (A) and the type of extraction methods (B) on chlorophyll content of PVY infected tobacco leaves

بحث

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد، محلول‌پاشی عصاره اتانولی و آبی جلبک‌ها شدت علائم ویروسی و غلظت نهایی ویروس را کاهش داد. مطالعات نشان داده است که ترکیبات موجود در عصاره جلبک‌ها موجب تحریک اسید سالیسیلیک در گیاه شده و در نتیجه موجب افزایش پاسخ دفاعی گیاه در برابر ویروس می‌شود، بنابراین این عصاره‌ها مقاومت گیاه را بهبود می‌بخشند (Sudirman *et al*., 2018). مکانیسم دیگری که موجب مهار ورود ویروس به سلول میزبان می‌شود، از طریق رقابت ترکیبات موجود در عصاره‌ها به‌ویژه پلی‌ساکاریدها با ویروس‌هاست، که در این مکانیسم، پلی‌ساکاریدهای موجود در ترکیبات عصاره جلبک‌ها، از اتصال ویروس به غشا سلول میزبان جلوگیری می‌کنند، بنابراین ویروس نمی‌تواند وارد سلول‌ها شود و در نتیجه شدت آلودگی کاهش می‌یابد (Hamed *et al*., 2018). پلی‌ساکاریدهای جدا شده از جلبک‌های قهوه‌ای با جلوگیری از اتصال ویروس در غشای سلول‌های گیاهی دارای فعالیت‌های ضد ویروسی موثری هستند (Jiao *et al*., 2011). لکتین‌های متصل به مانوز در پیشگیری و درمان عفونت‌های ناشی از ویروس از اهمیت فوق‌العاده‌ای برخوردارند، این لکتین‌ها گلیکان‌های موجود در سطح سلول‌ها را که برای ورود ویروس مورد نیاز است، هدف قرار می‌دهند (Balzarini, 2007). انواع لکتین‌ها از طیف وسیعی موجودات مختلف از جمله گیاهان، حیوانات، باکتری‌ها قارچ‌ها و جلبک‌ها گزارش شده است (Golotin *et al*., 2019). وجود برخی از پروتئین‌ها در عصاره جلبک‌ها به طور غیر مستقیم از

آلودگی ویروس جلوگیری می کند. این پروتئین ها ضد ویروس نیستند، اما سیستم‌های گیاهی را از طریق سیستم مقاومت اکتسابی (SAR) وادار به تولید پروتئین‌های جدید در گیاهان می‌کنند، که پروتئین‌های ضد ویروس هستند. این پروتئین ها در ارسال پیام برای فعال‌کردن مکانیسم‌های دفاعی در گیاهان مؤثر می‌باشند (Verma *et al*., 1998). همچنین نتایج محققان نشان داده است که جلبک‌ها دارای ترکیبات زیست فعال از جمله پلی‌فنل‌ها، آلکالوئیدها، ترپن‌ها، رنگدانه‌ها، استرول‌ها، اسیدهای چرب و چندین ترکیب دیگر هستند که به‌طور قابل توجهی به‌عنوان ضد ویروس، ضد باکتری و ضد سرطان استفاده می‌شوند (Biris-Dorhoi *et al*., 2020; Hentati *et al*., 2020; Martins *et al*., 2022). آلشاکانکریا و همکاران (Stadnik and De Freitas, 2014) گزارش دادند که عصاره جلبک‌ها شامل طیف وسیعی از ترکیبات فعال از جمله (اسیدهای آلی، اسیدهای آمینه، ویتامین‌ها، هورمون‌ها، آنزیم‌ها) است. پژوهش‌های زید و همکاران (Zaid *et al*., 2016)، محمد و همکاران (Mohamed *et al*., 2012)، ال-گامال (El-Gamal, 2010) و پولز و گراس (Pulz and Gross, 2004) اثرات ضد ویروسی جلبک‌های دریایی را تایید می‌کند. مکانیسم جلبک‌ها در مهار تکثیر ویروس-های گیاهی نیز توسط محققان مختلفی گزارش شده است. گیاهان سالم حاوی مقدار زیادی پروتئین محلول هستند که اجزای سنتز پروتئین پوششی ویروس را تشکیل می‌دهند. القای عصاره جلبک‌ها در گیاهان می‌تواند سطح پروتئین محلول را کاهش دهد و محیط را برای تکثیر ویروس نامناسب کند (Martins *et al*., 2022). ژائو و همکاران (Zhao *et al*., 2016) گزارش نمودند که جلبک‌ها تکثیر ویروس ایکس سیب‌زمینی را تا ۹۵ درصد در سیب‌زمینی مهار می‌کنند. ژائو و همکاران (Zhao *et al*., 2015) و استادنیک و دی‌فریتاس (Stadnik and De Freitas, 2014) نیز گزارش نمودند، جلبک *Dictyota* spp. دارای فعالیت ضد ویروسی در برابر ویروس‌های گیاهی به‌دلیل وجود پلی‌ساکاریدهاست. کاربرد عصاره جلبک‌ها موجب افزایش چندین فعالیت آنزیمی مانند پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز و فنل می‌شود که در سرکوب عفونت ویروسی نقش دارند (Abdelkhalek *et al*., 2021). جلبک‌ها و گیاهان توانایی تولید مواد فعال زیستی به‌ویژه فلاونوئیدها را دارند که می‌تواند در سرکوب پاتوژن‌ها نقش داشته باشد. فلاونوئید در حفاظت گیاه در برابر عوامل زیستی (گیاهخواران، پاتوژن‌ها) و عوامل غیر زیستی (اشعه UV، گرما) نقش دارند (Mierziak *et al*., 2014).

همچنین نتایج این پژوهش نشان داد، استفاده از عصاره جلبک‌ها موجب افزایش میزان کلروفیل شد. پنگ و همکاران (Peng *et al*., 2004) اعلام نموده‌اند که با افزایش غلظت ویروس‌های گیاهی،

نرخ فتوسنتز کاهش می‌یابد. پاپاجورجیو و گویندجی (Papageorgiou and Govindjee, 2005) نیز اعلام داشته‌اند که در گیاهان سالم نسبت کلروفیل a به b بصورت ۳ به ۱ است و در گیاهان آلوده به ویروس‌های گیاهی این نسبت بصورت ۲ به ۱ در می‌آید. در تحقیق حاضر ثابت شده‌است که آلودگی ویروسی ناشی از ویروس وای سیب‌زمینی، سبب تخریب ساختار کلروپلاست و سلول شد و میزان کلروفیل کاهش یافته‌است. ریسلاوا و همکاران (Ryslava *et al*., 2003) اعلام نمودند که آلودگی ویروسی ناشی از ویروس وای سیب‌زمینی بروی فتوسنتز تاثیر سوئ می‌گذارد. بنابراین انتظار می‌رود با کاهش غلظت نهایی ویروس، میزان کلروفیل افزایش پیدا کند. همچنین پژوهش‌ها نشان داده است، جلبک‌ها دارای ترکیباتی از جمله تنظیم کننده‌های رشد، اسیدهای آمینه و عناصر ماکرو و میکرو هستند، که موجب تحریک و افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش خشکی شده و همچنین از اکسید شدن برخی ویتامین‌ها از جمله ویتامین‌های E و C که در کلروپلاست وجود دارند، جلوگیری می‌کنند و در نتیجه کارایی فرآیند فتوسنتز و سبزینگی گیاه را افزایش می‌دهند (Eliwii Al-Dulami and Al-Fahd, 2023). جلبک دریایی به‌دلیل داشتن سه ماده آمینوبوتیرات، گلایسین بتائین و بتائین در عصاره استخراج شده در گیاهان تحت تیمار باعث افزایش میزان کلروفیل برگ می‌شود و همچنین محلول‌پاشی عصاره جلبک دریایی موجب تحریک فتوسنتز شده و منجر به تولید بهتر قند و نشاسته‌ها می‌شود. در برخی مطالعات مشاهده شده‌است که بهبود فتوسنتز توسط گلایسین بتائین در گیاهان تحت تنش سرما، به افزایش کارائی فتوسیستم ۲ مربوط می‌شود. گلایسین بتائین همانند یک محافظ اسمزی در کلروپلاست‌های گیاه تحت تنش عمل می‌کند (Abdel-latif *et al*., 2018). طبق نظر ال‌ساوی و همکاران (El-Sawy *et al*., 2017) عصاره جلبک باعث القای مقاومت سیستمیک در برابر ویروس موزاییک خیار (CMV) در بادمجان می‌شود و این القای مقاومت شدت و بروز بیماری CMV را در بادنجان به‌طور معنی‌داری کاهش می‌دهد. طی این تحقیق عصاره جلبک دریایی باعث افزایش تجمع فنل‌های آزاد، آنزیم‌های اکسیداتیو، پراکسیداز، پلی فنول اکسیداز و فنیل آلانین آمونیاک لیاز می‌شود و این عوامل باعث افزایش القای مقاومت سیستمیک شده و این مقاومت کاهش شدت و علایم و کاهش ذرات ویروسی را باعث می‌شود. نتایج پژوهش حاضر نشان داد، بیشترین کاهش در شدت علایم، غلظت نهایی ویروس و بیشترین افزایش در میزان کلروفیل مربوط به جلبک *P.australis* می‌باشد و این نتایج حاکی از ارجحیت عصاره اتانولی نسبت به عصاره آبی بود.

Refrences:

ABDELKHALEK, A., S.H. QARI, M.A.A. ABU-SAIED, A.M. KHALIL, H.A. YOUNES, Y. NEHELA and S.I. BEHIRY, 2021. Chitosan nanoparticles inactivate Alfalfa mosaic virus replication and boost innate immunity in Nicotiana glutinosa plants. Plants (Basel), 10(12): 2701. DOI: 10.3390/plants10122701

ABDEL-LATIF, A., R. BADR, I. HASSAN and G. OSMAN, 2018. Effect of *Ulva lactuca* aqueous extract on growth, minerals, chlorophyll content, rubisco activity and rubisco activase in *Zea mays* seedlings. Journal of Pure and Applied Microbiology, 12(2): 611-622. DOI: 10.22207/jpam.12.2.19

BALZARINI, J, 2007. Targeting the glycans of glycoproteins: a novel paradigm for antiviral therapy. Nature Reviews Microbiology, 5: 583. DOI: 10.1038/nrmicro1707

BATEMAN, J. G. and S. R. CHANT, 1979. A modification of the polyethylene glycol technique for the purification of small quantities of *tobacco mosaic virus*. Microbios, 25(99): 33-43. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/393959/.

BIRIS-DORHOI, E.S., D. MICHIU, C.R. POP, A.M. ROTAR, M. TOFANA, O.L. POP, S.A. SOCACI and A.C. FARCAS, 2020. Macroalgae-A sustainable source of chemical compounds with biological activities. Nutrients, 12(10): 3085. DOI: 10.3390/nu12103085

CHO, M., H. S. LEE, I. J. KANG, M. H. WON and S. YOU, 2011. Antioxidant properties of extract and fractions from *Enteromorpha prolifera*, a type of green seaweed. Food Chemistry, 127(3): 999-1006. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.01.072

CLARK, M. F. and A. N. ADAMS, 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. Journal of General Virology, 34(3): 475–483. DOI: 10.1099/0022-1317-34-3-475

CONVERSE, R. H., and R. R. MARTIN, 1990. ELISA methods for plant viruses. R., Ball, E. and Deboer, S. (Eds). Serological methods for detection and identification of viral and bacterial plant pathogens. Hampton Academic Press. Pp: 179-196.

COX, S., N. ABU-GHANNAM and S. GUPTA, 2010. An assessment of the antioxidant and antimicrobial activity of six species of edible Irish seaweeds. International Food Research Journal, 17: 205-220. DOI: 10.21427/D7HC92

DAMIRDAGH, I. S., and R.J. SHEPHARED, 1970. Purification of the Tobacco etch and other viruses of Potato Y group. Phytopathology, 60: 32-142. DOI: 10.1094/Phyto-60-132.

EL-GAMAL, A. A, 2010. Biological importance of marine algae. Saudi Pharmaceutical Journal, 18(1): 1-25. DOI: 10.1016/j.jsps.2009.12.001

EL-SAWY, M. M., M. M. ELSHARKAWY, J. MOHAMED ABASS and M. H. KASEM, 2017. Antiviral activity of 2-Nitromethyl Phenol, Zinc Nanoparticles and Seaweed extract against Cucumber mosaic virus (CMV) in Eggplant. Journal of Virology and Antiviral Research, 6(2): 90663694. DOI: 10.4172/2324-8955.1000173

ELIWII AL-DULAMI, A.K. and M.A.W. AL-FAHD, 2023. Bio-Mass Production of Spirulina Platensis and Its use in Inducing Hostility Resistance Against Potyvirus Potato virus y. Fifth International Conference for Agricultural and Environment Sciences, 1158. doi:10.1088/1755-1315/1158/7/072018

GOLOTIN, V. A., A. P. FILSHTEIN, I. V. CHIKALOVETS, N. Y. KIM, V. I. MOLCHANOVA and O. V. CHERNIKOV, 2019. Expression and purification of a new lectin from mussel *Mytilus trossulus*. Protein Expression and Purification, 154: 62-65. DOI: 10.1016/j.pep.2018.10.003

HAMED, S.M., A.A.A. EL-RHMAN, N. ABDEL-RAOUF and I.B.M. IBRAHEEM, 2018. Role of marine macroalgae in plant protection & improvement for sustainable agriculture technology. Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences, 7(1): 104-110. DOI: 10.1016/j.bjbas.2017.08.002

HENTATI, F., L. TOUNSI, D. DJOMDI, G. PIERRE, C. DELATTRE, A.V. URSU, I. FENDRI, S. ABDELKAFI and P. MICHAUD, 2020. Bioactive polysaccharides from seaweeds. Molecules, 25(14): 3152. DOI: 10.3390/molecules25143152

HUANG, C. Y., S. J. WU, W. N. YANG, A. W. KUAN and C. Y. CHEN, 2016. Antioxidant activities of crude extracts of fucoidan extracted from *Sargassum glaucescens* by a compressional-puffing-hydrothermal extraction process. Food Chemistry, 197: 1121-9. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.11.100

HULL, R, 2002. Matthews' plant virology. Academic Press, San Diego, California.

JIAO, G., G. YU, J. ZHANG and H. S. EWART, 2011. Chemical structures and bioactivities of sulfated polysaccharides from marine algae. Marine Drugs, 9(2): 196–223. DOI: 10.3390/md9020196

MARTINS, B., M. VIEIRA, C. DELERUE-MATOS, C. GROSSO and C. SOARES, 2022. Biological potential, gastrointestinal digestion, absorption, and bioavailability of algae-derived compounds with neuroprotective activity: A comprehensive review. Marine Drugs, 20(6): 362. DOI: 10.3390/md20060362

MIERZIAK, J., K. KOSTYN and A. KULA, 2014. Flavonoids as important molecules of plant interaction with the environment. Molecules, 19: 16240-16265. https://doi.org/10.3390/molecules191016240

MOHAMED, S., S. N. HASHIM and H. A. RAHMAN, 2012. Seaweeds: a sustainable functional food for complementary and alternative therapy. Trends in Food Science and Technology, 23(2): 83–96. DOI: 10.1016/j.tifs.2011.09.001

MORYA, V. K., J. KIM and E. K. KIM, 2012. Algal fucoidan: structural and size dependent bioactivities and their perspectives. Applied Microbiology and Biotechnology, 93: 71–82. DOI: 10.1007/s00253-011-3666-8

NAGORSKAIA, V. P., A. V. REUNOV, L. A. LAPSHINA, I. M. ERMAK and A. O. BARABANOVA, 2008. Influence of kappa/beta-carrageenan from red alga *Tichocarpus crinitus* on development of local infection induced by tobacco mosaic virus in Xanthi-nc tobacco leaves. Izvestiia Akademii nauk. Seriia Biologicheskaia, 35(3): 360-364. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/ 18668717. DOI: 10.1090/0022.

OBIED, H. K., M. S. ALLEN, D. R. BEDGOOD, P. D. PRENZLER and K. ROBARDS, 2005. Investigation of australian olive mill waste for recovery of biophenols. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53(26): 9911-9920. DOI: 10.1021/jf0518352

PAPAGEORGIOU, G. and C. GOVINDJEE, 2005. Chlorophyll a fluorescence, asignature of photosynthesis. Advances in Photosynthesis and Respiration, 19: 100-105. Doi: 10.1007/978-1-4020-3218-9

PARDEE, K. L., P. ELLIS, M. BOUTHILLIER, G. H. N. TOWERS and C. J. FRENCH, 2004. Plant virus inhibitors from marine algae. Canadian Journal of Botany, 82(3): 304–309. DOI: 10.1139/b04-002

PENG, Y., J. LEI, L. HUANG and J. YU, 2004. Effects of *Potato Virus Y* infection on chloroplast ultrastructure, photosynthesis and chlorophyll fluorescence quenching in potato leaves (abstract). Acta Phytopathologica Sinica, 34(1): 32-36. DOI: 10.1000/0022-1317-34-3-475

POONAM, S, 2015. The seaweed *Caulerpa taxifolia* was tested for activity against tobacco necrotic virus (TNV). International Journal of Virology and Molecular Biology, 4(1): 1-3.doi:10.5923/j.ijvmb.20150401.01.

PULZ, O. and W. GROSS, 2004. Valuable products from biotechnology of microalgae. Applied Microbiology and Biotechnology, 65: 635–648. DOI: 10.1007/s00253-004-1647-x

REYNOLDS, R. J, 2011. *Potato virus Y* (PVY) in Burly tobacco. Phytopathology, 103: 81-84. DOI: 10.1091/0002-1317-34-3-475

RYSLAVA, H., K. MULLER, S. SEMORADOVA, H. SYNKOVA and N, CEROVSKA, 2003. Photosynthesis and activity of phosphoenolpyruvate carboxylase in *Nicotiana tabacum* L. leaves infected by *Potato Virus A* and *Potato Virus Y*. Photosynthetica, 41(3): 357-363. DOI: 10.1023/B: PHOT.0000015459.22769.bf

SHAZDEHAHMADI, M. and M. R. SALAVATI MEYBODI, 2016. Evaluation of relative resistance of tobacco to potato virus Y using microsatellite markers (SSR). Agricultural Biotechnology, 6(2): 97-106. DOI: 10.1090/0022-1317-34-3-475

STADNIK, M.J., and M.B. DE FREITAS, 2014. Algal polysaccharides as source of plant resistance inducers. Tropical Plant Pathology, 39: 111-118. DOI: 10.1590/S1982-56762014000200001

SUDIRMAN, S., Y.H. HSU, J.L. HE and Z.L. KONG, 2018. Dietary polysaccharide-rich extract from *Eucheuma cottonii* modulates the inflammatory response and suppresses colonic injury on dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. Plos One, 13(10): 205-252. DOI: 10.1371/journal.pone.0205252

VERMA, H. N., V. K. BARANWAL and S, SRIVASTAVA, 1998. Antiviral substances of plant origin. In plant virus disease control, A. R. K. Hadidi, Khetarpal and H. Koganezawa (Fds.) APS. Press. st. Paul. Minnesota, 154-162.

VERRIER, J. L., V. MARCHAND, B. CAILLETEAU and R. DELON, 2001. Chemical change and cigarette smoke mutagenicity increase associated with CMV and PVY infection in burley tobacco. Coresta meet. Agro Phyto groups. Cape Town, South Africa, 1-12. DOI: 10.1009/0022-1317-34-3-475

WAZIRI, H. M. A, 2015. Plants as antiviral agents. Journal of Plant Pathology and Microbiology, 6(2): 288-301. doi:10.4172/2157-7471.1000254

ZAID, S. A. A., K. S. D. ABDEL-WAHAB, N. N. ABED, E. K. ABO ELMAGD and R. A. SALAHELDIN, 2016. Screening for antiviral activities of aqueous extracts of some egyptian seaweeds. The Egyptian Journal of Hospital Medicine, 64: 430–435. DOI: 10.12816/0029035

ZHAO, L., X.A. HAO and YF. WU, 2015. Inhibitory effect of polysaccharide peptide (PSP) against tobacco mosaic virus (TMV). International Journal of Biological Macromolecules, 75: 474-478. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2015.01.058.

ZHAO, L., C. H. FENG, K. WU, W. CHEN, Y. CHEN, X. HAO and Y. WU, 2016. Advances and prospects in biogenic substances against plant virus: a review. Pesticide Biochemistry and Physiology, 135: 15-26. DOI: 10.1016/j.pestbp.2016.07.003