

تشخیص ویروس موزائیک توتون در سیگارهای ایرانی*

نورالدین هابیلی^۱

وجود ویروس موزائیک توتون در سیگارهای داخلی شامل
اشنو و بژه، هما (فیلتر دار و بدون فیلتر)، زر،
زرین، شیراز، آزادی، بهمن، سیگار محلی لف و
تنباکوی برازجانی با استفاده از روشهای نشانه شناسی،
سرولوژیکی و مشاهده پیکره های ویروس در میکروسکپ
الکترونی به اثبات رسید. ویروس موجود در تمام سیگارها
در *Chenopodium murale* و *Nicotiana glutinosa*
Nicotiana لکه های موضعی و در *tabacum cv. Xanthi*
عصاره گیاه آلوده اخیر در مقابل آنتی سرم نژاد U از TMV
واکنش مثبت نشان داد و از برگ همین گیاه پیکره های
خمش ناپذیر ویروس موزائیک توتون در زیر میکروسکپ
الکترونی مشخص گردید.

مقدمه

ویروس موزائیک توتون (TMV) در مزارع توتون تمام مناطق جهان پراکنده
است. این ویروس حدود ۳۵۰ گونه گیاه از جمله سرخسها را آلوده می کند (۱۱،۸) و
از نظر اقتصادی در سطح جهانی بیماریهای مهمی در توتون و گوجه فرنگی ایجاد
می نماید. در توتون نه تنها مقدار محصول را بطور غیرقابل تصویری تقلیل می دهد،
بلکه از نظر کیفی ارزش بیوشیمیایی برگ توتون را در جهت نامطلوبی پائین می آورد
(۴). مصطفوی (۷) که TMV را از روی نشانه شناسی در مزارع شمال کشور تشخیص داد

* تاریخ دریافت مقاله ۶۲/۱۲/۹، تاریخ پذیرش ۶۳/۴/۴

۱- دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران - اهواز

گزارش نمود که ۴۵ درصد مزارع توتون به این ویروس آلوده بوده است. در استان فارس طبق بررسیهای ایزدپناه (۵) ویروس مزبور از تنباکو و بادمجان سوا شده، بعلاوه نوعی از آن از خیار و گوجه فرنگی نیز جدا شده است. این ویروس ناقل خاصی نداشته و بقاء آن در نتیجه خواص ویژه‌ای که پاره‌ای از آنها به قرار زیرند تضمین می‌شود (۶):

۱- مقاومت زیاد آن در مقابل عوامل بی اثر کننده،

۲- تراکم زیاد آن در گیاه میزبان،

۳- سهولت در انتقال مکانیکی،

۴- دامنه میزبانی وسیع.

چنانچه TMV مزرعه ای را آلوده نماید دفع آن بسیار مشکل خواهد بود (۶). بنابراین وجود این ویروس در بقایای گیاهی و نیز در سیگار امری عادی بوده و احتمالاً "کشاورزان سیگاری خصوصاً هنگام نشاء کاری توتون، گوجه فرنگی، بادمجان و غیره می‌توانند آن را به بوته‌های سالم منتقل نموده و به مسئله‌ای فیتوتیک شدن TMV کمک نمایند (۶).

نظر باینکه تا کنون وجود TMV در سیگارهای ایرانی توسط پژوهشگران مطالعه نشده، مقاله حاضر نتایج چنین مطالعه مقدماتی را ارائه می‌دهد:

مواد و روشها

گیاهان میزبان در اطاقکی زیر نور فلورسانت با شدت روشنائی معادل ۱۲۰۰۰ لوکس و حرارت ۲۵ - ۲۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. طول مدت روشنائی در شبانه روز ۱۶ ساعت بود.

برای تلقیح گیاهان آزمون محتویات هر سیگار در ۵-۴ میلی لیتر آب لوله‌کشی در یک هاون چینی له شد. پس از حذف مواد زائد با پارچه ململ عصاره بدست آمده روی برگهائی که قبلاً "بوسيله ماده خراش دهنده کربوراندم ۳۲۰ مش (Carborundum, 320 mesh) گردپاشی شده بودند مایه زنی گردید و بلافاصله پس از آن برگها در زیر شیر آب شسته شدند. گیاهان شاهد فقط با آب لوله‌کشی طبق روش فوق تلقیح گردیدند. علائم حاصل در گیاهان حداکثر تا دو هفته بعد یادداشت برداری شد.

در مطالعات سرولوژیکی از روش نشت دو طرفه در آگار طبق دستورات قبلی (۲) با مختصر تغییراتی استفاده شد. pH بافر به ۷/۲ و غلظت آزید سدیم

(Sodium azide) به چهار صدم درصد افزایش یافت. از آنتی سرم TMV (نژاد U_1) که از ونزوئلا ارسال گردیده بود در این بررسی استفاده شد. در بررسیهای مربوط به میکروسکپ الکترونی روش "Leaf dip" و رنگ آمیزی منفی به کمک اسید فسفوتنگستیک ۲ درصد ($pH = 7$) بکار گرفته شد.

نتیجه

سیگارهای ایرانی و تنباکوئی که آلودگی آنها به TMV با استفاده از روشهای نشانه شناسی، سرولوژی و میکروسکپ الکترونی محرز گردید عبارت بودند از:

۱- اشنو ویژه ۲- زر ۳- زرین ۴- هما فیلتر دار
۵- هما بدون فیلتر ۶- شیراز ۷- آزادی ۸- بهمن

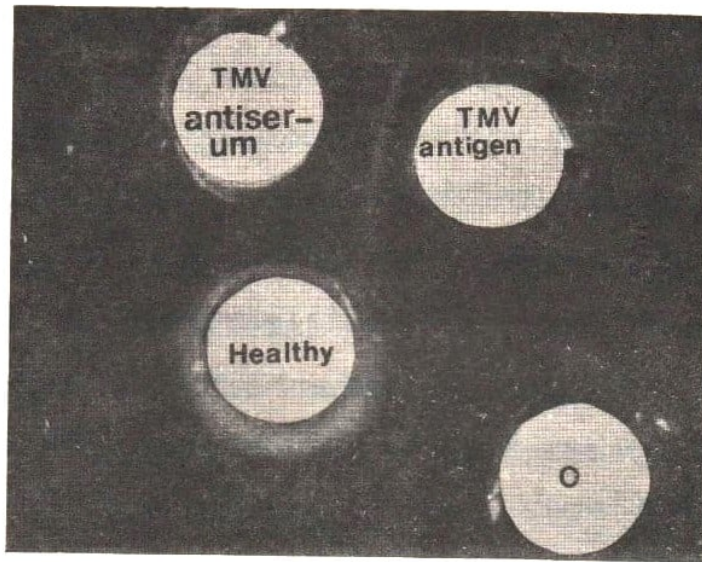
۹- تنباکوی برازجانی ۱۰- سیگاری که به محلی خوزستانی به آن لف (Lef) گفته می شود (آنرا قبل از مصرف می پیچند). عصاره سیگارهای هما و زر در *Nicotiana glutinosa* لکه های موضعی و در *Nicotiana tabacum* رقم Xanthi علائم موزائیکی ایجاد نمود (شکل ۱). عصاره سایر سیگارها احتمالاً به علت تراکم کمتر ویروس در آنها، فقط در توتون Xanthi علائم موزائیکی را پس از طی مدت طولانی تری نشان دادند. لیکن عصاره زانسی آلوده پس از تراکم ویروس در آن در گلوتینوزا تولید لکه موضعی نمود. عصاره اخیر سه ماه پس از نگهداری در اطاق هنوز خاصیت آلوده کنندگی خود را حفظ کرده بود. در گیاهان شاهد هیچ علائمی ظاهر نگردید. ضمناً گیاه *Chenopodium murale* نیز در مقابل TMV علائم لکه موضعی از خود نشان داد. تمام نخهای سیگار به جز سیگار آزادی در تکرار اول ویروس داشتند. ولی سیگار آزادی در تکرار دوم از خود آلودگی نشان داد.

از عصاره توتون زانسی که علائم موزائیکی داشتند برای تست سرولوژیکی استفاده شد. وجود TMV با ظهور یک خط کمافی بین حفره محتوی عصاره آلوده و حفره آنتی سرم به اثبات رسید. چنین خط رسوبی بین حفره آنتی سرم TMV و حفره عصاره توتون سالم مشاهده نگردید (شکل ۲). مشاهدات میکروسکپ الکترونی پیکره هائی از ویروس با مشخصات مرفولوژیکی TMV را نشان دادند (شکل ۳).

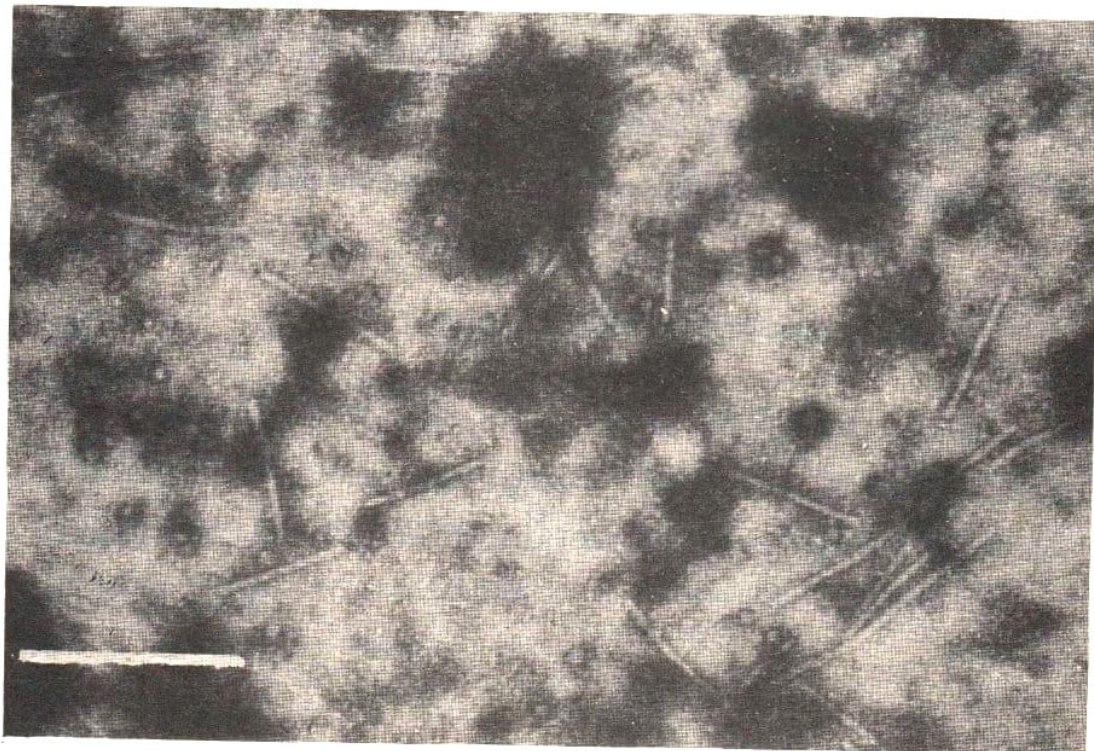


شکل ۱- a - علائم لکه‌های موضعی ناشی از ویروس موزائیک توتون موجود در برگ *Nicotiana glutinosa*. آلودگی از چپ به راست شدت یافت.

b - گیاه *N. tabacum* cv. Xanthi آلوده به TMV



شکل ۲- نتیجه آزمون سرولوژیکی نشت دو طرفه در آگار با بکار بردن عصاره گیاه توتون آلوده به ویروس (TMV antigen) و عصاره توتون سالم (Healthy) . در چاهک ۰ چیزی ریخته نشد .



شکل ۳- تصویر میکروسکپ الکترونی مربوط به ویروس موزائیک توتون (TMV) که از برگ توتون رقم Xanthi آلوده تهیه شده است . مقیاس طول خط سفید برابر ۵۰۰ نانومتر است .

بحث

با توجه به مقاومت بسیار زیاد TMV، این ویروس به آسانی میتواند مراحل گوناگون تهیه سیگار را بدون آسیب طی کرده و در سیگار بصورت فعال باقی بماند . بدین ترتیب TMV میتواند در سطح کشور پراکنده گردد . زیان آن نه تنها متوجه توتون از نظر کاهش محصول و کیفیت آنست ، بلکه گیاهان دیگری نظیر بادمجان و گوجه فرنگی را نیز تهدید می نماید . خوشبختانه امروزه لااقل در گوجه فرنگی ژن مقاوم به ویروس را که Tm-2 نام دارد وارد گیاه نموده اند (۳) .

آزمایش نشان داده هرچه مرغوبیت سیگار بیشتر باشد (مانند سیگارهای آزادی و بهمن) مقدار ویروس در آن کمتر است . با توجه به اینکه حتی لباسهای کشاورزان که تا سه سال در تاریکی نگهداشته شده اند توانسته اند آلودگی خود را حفظ کنند ، شستن دستها و لباسها با محلول ۳ درصد تری سدیم ارتوفسفات توصیه شده است (۱) .

وجود TMV در سیگار جنبه بین المللی دارد ، بطوریکه Wetter (۹) گزارش نمود که تمام ۳۷ مارک سیگار تهیه شده در آلمان به این ویروس آلوده بوده اند . طبق بررسی دیگری که توسط همین پژوهشگر انجام شده بیشتر سیگارها آلوده به U_2 این ویروس بوده اند (۱۰) و TMV توانسته است تا ۵۰ درصد آلودگی اولیه خود را در سیگار حفظ نماید . بنابراین با توجه به پایداری این ویروس در سیگار توصیه می شود که کشاورزان از به همراه داشتن و مصرف سیگار در مزارع توتون ، گوجه فرنگی ، بادمجان و غیره خودداری نمایند .

تشکر

بدینوسیله از آقای دکتر فریور اسکندری که گریدهای میکروسکپی را برای اینجانب ارسال داشته اند تشکر می نماید . ضمناً از واحد میکروسکپ الکترونی انستیتو وایت دانشگاه آدلاید (استرالیا) که میکروگراف را تهیه و ارسال داشته اند سپاسگزاری می شود .

منابع مورد استفاده

1. Broadbent, L. and Fletcher, J. T. 1963. The epidemiology of tomato mosaic. IV. Persistence of virus on clothing and glasshouse structures. *Ann. Appl. Biol.* 52: 233-241.
2. Habili, N. and Elahinia, A. 1979. Detection of some natural hosts of cucumber mosaic virus in Khuzistan. *Iran. J. Plant Path.* 15: 34-40.
3. Hall, T. C. 1980. Resistance at the Tm-2 locus in the tomato to tomato mosaic virus. *Euphytica* 29: 1-9.
4. Hedjazi, M. 1971. Virus diseases of tobacco. *In*: "The First Iranian Tobacco and Cigarette Seminar." pp: 149-156 (in Farsi).
5. Izadpanah, K. 1983. An annotated list of virus and virus-like diseases of plants in Fars. University of Shiraz. 189 pp.
6. Matthews, R. E. F. 1981. *Plant Virology*. 2nd ed. Academic Press, New York. 897 pp.
7. Mostafavi, M. 1973. The virus mosaic diseases of tobacco in north region of Iran. *In*: "The Second Iranian Tobacco and Cigarette Research Seminar." pp. 153-158 (in Farsi).

8. Thornberry, H. H. 1966. Index of Plant Virus Diseases. U.S. Dept. of Agriculture, Handbook No. 307. 446 pp.
9. Wetter, C. 1975. Tabakmosaikvirus und Para-Tabakmosaikvirus in Zigaretten. Naturwissenschaften 62: 533.
10. —————, and M. Bernard, 1977. Identifizierung, Reiningung und Serologischer Nachweis Von Tabakmosaikvirus und Para-Tabakmosaikvirus aus Zigaretten. Phytopath. Z. 90: 257-267.
11. Zaitlin, M. and H. W. Israel, 1975. Tobacco mosaic virus (type strain). *In*: Descriptions of plant viruses. No. 151. Commonw. Mycol. Inst., Assn. Appl. Biol. Kew, England.

IDENTIFICATION OF TOBACCO MOSAIC VIRUS IN IRANIAN CIGARETTES

N. Habili

College of Agriculture, Shahid Chamran Univ., Ahvaz, Iran

SUMMARY

Tobacco mosaic virus (TMV) was identified in 10 Iranian cigarettes including Zar, Zarrin, Oshno-Vizheh, Homa, Shiraz, Azadi and Bahman based on symptomatology, morphology, and serological tests. Local lesions on *Nicotiana glutinosa* and *Chenopodium murale*, as well as mosaic symptoms on *N. tabacum* cv. *Xanthi* were observed after inoculating with saps prepared from cigarette material. Sap from infected *Xanthi* tobacco stored for almost 3 months at room temperature was still infective.

A single precipitin line was invariably obtained in gel double-diffusion plates using an antiserum against TMV-U1 and sap from infected *Xanthi* tobacco. No precipitin line was observed between healthy tobacco sap and the antiserum.