

سه نژاد جدید ویروس موزائیک یونجه در ایران^۱

عزیزاله علیزاده^۲

نژادهای مختلف ویروس موزائیک یونجه در ایران روی گیاهان خانواده لگومینوزشیوع دارند. در این بررسی ۳۵ ایزوله از یونجه کاریهای مناطق مختلف ایران جمع آوری گردید. نمونه های مورد مطالعه براساس اثرشان روی سه رقم لوبیا^۳ در سه گروه کاملاً "متمايز قرار داده شد. از هر گروه یک نژاد بطریقه تک لکه گیری جدا شده همبستگی سرولوژیکی آنها با آنتی سرم ویروس موزائیک یونجه مورد آزمایش و تأیید قرار گرفت. ویژگیهای هر نژاد از نظر خواص فیزیکی، راههای انتقال دامنه میزبان و علائم شناسی مورد مطالعه و با یکدیگر مقایسه شدند. انتقال ویروس بطریقه مکانیکی روی بیشتر میزبانهای گیاهی بسهولت انجام پذیرفت ولی در یونجه این نوع انتقال بسختی صورت گرفت. علائم ناشی از این سه ایزوله بر روی بیش از ۵۰ گونه گیاه آزمون با نشانه های ایجاد شده از سایر نژادهای ویروس روی همین گیاهان مقایسه شد و تفاوت های بارزی مشاهده گردید. هیچکدام از سه نژاد این ویروس قادر به آلوده کردن خیار بطریقه مکانیکی نبودند. در یکی از نژادهای این ویروس امکان انتقال بوسیله بذرارقام مختلف یونجه مورد مطالعه قرار گرفت و حداکثر انتقال در یونجه رقم بمی بمیزان ۸٪ تعیین شد. انتقال از راه سس و بطریقه ناپایا در دو گونه شته مورد تأیید قرار گرفت.

مقدمه و بررسی نوشته ها

نژادهای هر ویروس در حقیقت فرمهای تغییر یافته ای^۴ هستند که در اثر

۱- مطالب این مقاله مجموعه ای از تحقیقات دوره فوق لیسانس و بررسیهای است که در دانشگاه جندی شاپور انجام گرفته است.

۲- مربی گروه گیاه پزشکی دانشکده کشاورزی، دانشگاه جندی شاپور.

3- Bountiful, Pinto 111, Early Ramshorn.

4- Variants

موتاسیرون و احتمالاً "هیبریداسیون ضمن تکثیر ویروس بوجود میآیند ، اگر این فرمهای تغییر یافته بتوانند با ویروس مادر رقابت کرده و در گیاه تکثیر حاصل کنند ممکن است تولید نژاد^۱ جدیدی بنمایند . مهمترین وجوه اختلاف بین نژادهای یک ویروس در قدرت بیماریزائی ، دامنهٔ میزبانها و علائم ظاهری بیماری بر روی گیاهان میزبان میباشد . ضمناً " ممکن است تفاوتی بین نژادهای یک ویروس ، از نظر خواص فیزیکی ، ترکیب شیمیائی ، قابلیت انتقال بوسیله ناقلین و درجه همبستگی سرولوژیکی وجود داشته باشد . این تفاوتی بین نژادی کمتر از اختلاف موجود بین ویروسهای مختلف میباشد (۱) .

ویروس موزائیک یونجه ، شاید بدلیل داشتن نژادهای متعدد ، دارای دامنه میزبانی بسیار زیادی است . اولین بار ویمر نژاد اصلی این ویروس را در ۱۹۳۱ گزارش داد (۲۲) . از سال ۱۹۳۱ تا بحال نژادهای متعددی از ویروس مذکور مشاهده شده است چنانچه هال (۱۱) در گردآوری بسیار جامع خود ۳۵۵ گونه میزبان دولپهای ، متعلق به ۴۷ خانواده را اسم میبرد . نامبرده علاوه بر یونجه از ۴۷ گونه گیاهی دیگر (متعلق به ۱۲ خانواده) بعنوان میزبان واسطه ویروس در طبیعت نام برده است . در میان ۱۹ نژاد معرفی شده در گردآوری هال اشاره ای به نژادی از این ویروس در ایران نشده ، ولی در همین مجموعه گیاه عدس برای اولین بار بنقل از کایزر (Kaiser 1968) در لیست میزبانهای طبیعی ویروس گزارش میگردد . مطالعات در این زمینه با گزارش دو نژاد ویروس روی هویج و جعفری بوسیله استیل و کمبل (۲۱) در کالیفرنیا و ایزوله ای از گیاه *Ajuga reptans* توسط شرودر و پرویدنتی (۱۹) دنبال گردیده است .

منوچهری (۱۵) علائم ظاهری این بیماری را اولین بار در سال ۱۳۴۲ از یونجه کاریهای کرج ، شیراز و ورامین گزارش کرد . کایزر و همکارانش در سال ۱۳۵۱ (۱۳) ضمن معرفی دو نژاد ویروس بنام های AMV-1 و AMV-2 تعدادی از میزبانهای طبیعی آنرا از ایران گزارش کردند . نژادهای متعدد این ویروس با اختلافات بسیار کوچکی بر حسب علائمشان روی میزبانها و برخی خواص فیزیکی از هم متمایز میشوند . دو گیاه آزمون لوبیا و لوبیاچشم بلبلی در موارد بسیار زیادی برای تفکیک و تشخیص نژادهای ویروس موزائیک یونجه مورد استفاده قرار گرفته است .

بانکروفت و همکارانش (۴) ۳۵ ایزوله^۴ این ویروس را براساس زخمهای نکروتیک موضعی^۱ یا آلودگی سیستمیک روی این دو گیاه آزمون در چهار گروه قرار دادند. همچنین بورک در سال ۱۹۶۵ (۷) با مایه زنی ۱۱۵ ایزوله ویروس موزائیک یونجه روی لوبیا و باقلا ۱۵ الی ۲۰ نژاد یا ترکیبی از نژادها را تفکیک نمود. از طرفی بعضی محققین سعی کردند نژادهای این ویروس را برحسب علائمشان روی یک یا دو میزبان اصلی آن گروه بندی نمایند، چنانکه میل براس و مک ورتز (۱۷) در سال ۱۹۵۳ از گوجه فرنگی برای این منظور استفاده نموده و ۲۳ ایزوله از ویروس را در چهار گروه قرار دادند. دامنه تغییرات درجه حرارت بی اثر شدن ویروس موزائیک یونجه کمتر مطالعه شده و در این مورد ارقام گوناگونی ارائه گردیده است. دیکسترا (۸) درجه حرارت بی اثر شدن نژادی از ویروس را ۴۰ و زومیر (۲۴) این درجه را در نژاد دیگر بین ۷۰-۶۵ درجه سانتیگراد میداند. دیگر محققینی چون هالیسکی و همکارانش (۱۱) و برکلی (۶) در مطالعات خود درجاتی بین ۵۵-۵۰ و ۶۳-۶۱ گزارش نموده اند. بطور کلی درجه حرارت بی اثر شدن ویروس موزائیک یونجه را بسته به نژادهای مختلف باید بین ۵۰ تا ۷۰ درجه سانتیگراد جستجو کرد. در مورد آخرین حد ترقیق ویروس محققان بیشتر ۱۰^۳ و گاهی ۱۰^۵ را گزارش میکنند. طبق نظریه پیرس (۱۸) ویروس عفونت زائی خود را در عصاره آلوده گیاه ۹-۷ روز حفظ میکند ولی بنا بر عقیده زومیر و وید (۲۵) این مدت از ۳-۴ روز تجاوز نمیکند. بنظر میرسد تغییرات خواص فیزیکی ویروس موزائیک یونجه ناشی از اینست که این ویروس دارای نژادهای متعدد بوده و خصوصیات این نژادها نیز توسط محققین مختلف روی میزبانهای متفاوتی مورد مطالعه قرار گرفته است.

بنا بر تحقیقات دانشمندانی چون چاو (۲۶) فراشیزر (۹) و بلی (۵) ویروس موزائیک یونجه در بعضی واریته های یونجه تا ۶% بوسیله بذر منتقل میگردد، حتی فراشیزر در سال ۱۹۷۴ انتقال این ویروس را از طریق گامت نر (پولن) و گامت ماده نیز در گیاه یونجه گزارش مینماید. در تحقیقات جامع شملزر (۱۹) از پنج گونه سن بعنوان ناقلین این ویروس اسم برده شده است. ویمر (۲۳) در سال ۱۹۳۴ انتقال نژاد اصلی ویروس را بوسیله شته^۴ *Macrosiphum pisi* گزارش کرد و بعد از آن کندی و همکارانش (۱۴) انتقال این ویروس را توسط ۱۳ گونه شته^۴ آید نمودند.

1- Local Lesions

بالاخره ماتیسوا در سال ۱۹۷۲ نتایج تحقیقات خود را در مورد انتقال ناپای ویروس بوسیله دو گونه شته منتشر کرد.

طورکلی هدف از این بررسی ها، پیدا کردن نژادهای ویروس موزائیک یونجه در یونجه کاریهای مناطق مختلف ایران و مقایسه پاره‌ای از خواص فیزیکی آنها با سایر نژادهای همین ویروس از دیگر مناطق دنیا بود.

مواد و روش بررسی

۱- انتخاب و تفکیک نژادهای ویروس. برای تهیه نژادهای خالص ویروس عصاره^۱ ۳۰ نمونه برگ یونجه که در آنها علائم موزائیکی (زردی یا بد شکلی) دیده میشد استخراج گردید. عصاره حاصل بکمک پودر کاربوراند^۱ در گلخانه روی سه رقم لوبیا بنامهای Bountiful, Pinto 111 و چشم بلبل^۱ رقم Early Ramshorn - مایه زنی گردید. ایزوله‌های مورد آزمایش براساس علائمشان روی سه گیاه آزمون فوق‌الذکر در سه گروه متمایز قرار داده شد. بمنظور تسهیل در ادامه مطالعات بعدی، سه ایزوله تیپیک (از هر گروه یک ایزوله) انتخاب و جهت خالص کردن ایزوله‌های مزبور از روش تک‌لکه‌گیری استفاده گردید، بدین ترتیب که از عصاره زخمهای ایجاد شده روی گیاهان آزمون (Bountiful در گروه I و II، Lupinus albus در گروه III) جهت مایه‌زنی روی بوته‌های جوان نخود قزوینی و شنبلیله^۲ رقم ورامین استفاده شد سپس آلودگی دو گیاه اخیر از طریق مایه زنیهای برگشتی^۳ روی لوبیا و سایر نباتات آزمون مورد تأیید قرار گرفت. آزمایشهای سرولوژیکی لازم نیز با آنتی سرمی که قبلاً^۴ از یک منبع خارجی (Dr. L. Bos) تهیه شده بود بعمل آمد.

۲- تعیین خواص فیزیکی نژادهای منتخب. برای این منظور از عصاره شنبلیله ورامین استفاده گردید. عصاره^۲ شنبلیله آلوده بکمک پارچه^۱ ملل صاف و سپس توسط بافر فسفات (pH = ۷) به نسبت ده درصد رقیق و برای تعیین خواص فیزیکی ویروس (درجه حرارت بی اثر شدن ویروس، آخرین حد ترقیق، دوام ویروس در محیط خارج سلولی^۳ و حفاظت متقابل^۴) مورد استفاده قرار گرفت. بعد از هر مایه زنی لکه شماری

1- Carborundum 320 mesh,

2- Back inoculations,

3- *In vitro*

4- Cross Protection,

بفواصل ۲۴ ساعت انجام شد و حداقل بمدت ۱۵-۱۰ روز ادامه پیدا کرد .

۳- انتقال ویروس . انتقال ویروس از طریق مکانیکی (با کمک پودر خراش دهنده^۱

کاربوراند م) . از راه بذر (بعد از دوبار مایه زنی روی سه وارسته یونجه بمی ، شیرازی و یزدی) از طریق سس^۱ (با انتقال از روی شنبلیله آلوده به شاخه های یونجه) و بوسیله شته سیاه باقلا (*Aphis fabae* Scop.) و سبز هلو (*Myzus persicae* Sulzer) صورت گرفت . در روش اخیر برای پرورش و سالم سازی شته های سبز هلو و سیاه باقلا در گلخانه به ترتیب از گیاه باقلا و نوعی تاتوره استفاده گردید (۲) . در این روش که در دو مرحله جداگانه انجام پذیرفت ، از شنبلیله آلوده بعنوان منبع ویروس^۲ و از یونجه یزدی بعنوان گیاه آزمون استفاده شد .

در مرحله اول تعدادی از شته های سالم هر کلنی از دو گیاه میزبان به ظروف پتری استریل منتقل گردید . شته های موجود در پتری بعد از یک ساعت گرسنگی دادن^۳ بوسیله برس نرمی روی شنبلیله آلوده انتقال داده شد . پس از گذشت دو ساعت (زمان تغذیه اکتسابی^۴) شته های مزبور از شنبلیله روی یونجه یزدی منتقل گردیدند و ۲۴ ساعت بعد از این عمل ، کلیه شته ها بوسیله سمپاشی از بین برده شدند .

در مرحله دوم که منحصراً " از شته سیاه باقلا استفاده گردید ، قبل از انتقال بر روی شنبلیله آلوده بمدت یک ساعت به ناقل گرسنگی داده شد . شته ها بعد از یک تغذیه^۵ ۳۰ ثانیه ای روی گیاه آلوده (زمان تغذیه اکتسابی) به بوته های سالم باقلا (۱۵ بوته و برای هر بوته ۱۰ عدد شته از سنین مختلف) انتقال داده شد . همچنین قدرت انتقال ناقل ، بدون گرسنگی قبل از تغذیه از منبع ویروس و با یک گرسنگی یکساعته بعد از زمان تغذیه اکتسابی (۳۰ ثانیه) نیز مورد مطالعه قرار گرفت .

۴- میزبان های ویروس و نشانه شناسی . در ایران کار بررسی و تعیین میزبانهای

طبیعی ویروس موزائیک یونجه از سال ۱۳۴۹ شروع شد (۱۳) . نگارنده در تعقیب این هدف نمونه هایی از گیاهان آلوده مزارع یونجه را (در مرحله^۶ حداکثر شیوع بیماری) روی گیاهان معرف^۵ مایه زنی نمود . در مواردیکه گیاهان معرف بعد از دوبار مایه کوبی

1- *Cuscuta kotshyana*

2- Production hosts

3- Starvation

4- Acquisition feeding

5- Diagnostic Plants

واکنش مثبت نشان نمیدادند از دور آزمایش حذف و آلودگی میزبانهایکه بعد از مایه زنی علائم بیماری بروز میدادند با آزمایشات سرولوژیکی نیز شناسائی میگردد . جهت بررسی دامنه^۶ میزبان و علائم احتمالی ایجاد شده توسط ایزوله ها مایه زنیهای مکانیکی بر روی بیش از ۵۰ گیاه آزمون بعمل آمد . در صورتیکه گیاهان مایه کوبی شده (۳ گلدان در مقابل یک شاهد) علائم مشخصی از آلودگی ویروسی نشان نمیدادند مایه زنی تکرار میشد . چنانکه این گیاهان عکس العمل خاصی نشان نداده یا احیاناً "علائم مشکوکی بروز میدادند ، آلودگی آنها با تلقیح برگشتی کنترل میگردد . درجه حرارت گلخانه بین ۱۸-۲۶ درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی آن بین ۷۰-۵۰% در نوسان بوده است .

۵- روشهای سرولوژیکی و خالص کردن ویروس . کلیه آزمایشات سرولوژیکی و روش خالص کردن ویروس موزائیک یونجه بهمان صورت که قبلاً " توسط نگارنده گزارش شده انجام گردیده است (۳) .

نتیجه و بحث

نتایج حاصله از بررسی خصوصیات سه ایزوله^۶ ویروس موزائیک یونجه از کرج ، اصفهان ، رضائیه ، تبریز ، دزفول و اهواز که مبنای تفسیر و نتیجه گیری نگارنده جهت معرفی سه نژاد جدید این ویروس در ایران (AMV_N ، AMV_S ، AMV_L)^۱ قرار گرفته بطور خلاصه در جداول ۱ ، ۲ و ۳ گنجانیده شده است .

از مجموعه^۶ نتایج و مندرجات جداول میتوان خلاصه زیر را استخراج نمود :

۱- سی ایزوله ویروس جمع آوری شده از یونجه کاریهای مناطق مختلف ایران براساس اثرشان روی سه گیاه معرف (Bountiful ، Pinto 111 و چشم بلبلی (Early Ramshorn) در سه گروه کاملاً " متمایز (III-II-I) قرار داده

۱- AMV_L - نژادی از ویروس موزائیک یونجه که در برگ های مایه کوبی شده^۶ لوبیای رقم Bountiful لکه های نکروتیک موضعی ایجاد میکند .

AMV_S - نژادی از ویروس موزائیک یونجه که در لوبیای رقم Bountiful بحالت موزائیک سیستمیک درمی آید ،

AMV_N - نژادی از ویروس موزائیک یونجه که در لوبیای رقم Bountiful نکروز آوندی ایجاد میکند ،

جدول (۱) - گروه بندی سی ایزوله جمع آوری شده از مناطق مختلف کشور برحسب علائمشان
روی سه رقم لوبیا

گروه	محل جمع آوری و تعداد ایزوله	علائم روی یونجه جمع آوری شده	علائم روی گیاهان معرف
I AMV _L	کرج - مزارع دانشکده کشاورزی (۶ ایزوله)	موزائیک سیستمیک و پیچیدگی	لکه های نکروتیک موضعی
	کرج - مزارع دانشکده کشاورزی (یک ایزوله)	برگهای بالائی کوتولگی بوته ، کلروز	لکه های نقش حلقوی
	رضایه (یک ایزوله)	موزائیک سیستمیک	لکه های نکروتیک موضعی
	شیراز (۲ ایزوله)	موزائیک سیستمیک	لکه های نکروتیک موضعی
	شیراز (۱ ایزوله)	موزائیک برگهای پائین و پیچیدگی در برگهای انتهائی	لکه های نقش حلقوی
	تبریز (۲ ایزوله)	موزائیک سیستمیک	لکه های نکروتیک موضعی
	دزفول (۱ ایزوله)	موزائیک سیستمیک	لکه های نکروتیک موضعی
	اهواز (۱ ایزوله)	فاصله میان گره ها کوتاه و برگها کوچک	لکه های نقش حلقوی
	اصفهان (۴ ایزوله)	موزائیک سیستمیک	لکه های نکروتیک موضعی
	کرج - کمال آباد (۱ ایزوله)	موزائیک و بدشکلی	لکه های نکروتیک موضعی
	کرج - قزل حصار (۱ ایزوله)	موزائیک و بدشکلی	لکه های نکروتیک موضعی
II AMV _S	شیراز (۳ ایزوله)	موزائیک زرد	لکه های نکروتیک و موزائیک زرد
III AMV _N	دزفول (۲ ایزوله)	موزائیک زرد	لکه های نکروتیک و موزائیک زرد
	کرج - کمال آباد (۲ ایزوله)	کلروز برگي و چین خوردگی در برگهای بالائی	نکروز برگي - مرگ گیاه
	دزفول - (۲ ایزوله)	فاصله بین گره ها کوتاه برگها کوچکتر	نکروز برگي - مرگ گیاه

جدول (۲) - درجه حرارت بی اثر شدن، آخرین حد ترقیق و دوام سه نژاد ویروس موزائیک
یونجه در محیط خارج سلولی

ایزوله AMV	درجه حرارت بی اثرکننده (TIP) ^۱ ویروس	آخرین حد ترقیق ویروس (DEP) ^۲	دوام ویروس در محیط خارج سلول برحسب روز (LIV) ^۳
AMV _L	۶۰-۶۴	۱۰-۳-۱۰-۴	۲-۳
AMV _S	۶۴-۶۸	۱۰-۳-۱۰-۴	۳-۴
AMV _N	۶۰-۶۴	۱۰-۳-۱۰-۴	۱-۲

1- Thermal Inactivation Point. 2- Dilution End Point.

3- Longevity *In Vitro*

شد. بمنظور تسهیل در ادامه مطالعات سه ایزوله تیپیک (از هر گروه یک ایزوله) و خالص شده براساس علائمشان روی لویای رقم Bountiful به ترتیب با نامهای AMV_L و AMV_S و AMV_N مشخص گردیدند.

۲- سه ایزوله مورد بررسی دارای دامنه میزبانی بسیار وسیعی از نباتات مختلف بوده و درایران علاوه بر یونجه ۲۰ گونه گیاه دیگر نیز میزبان واسطه و ویروس و منبع بزرگی از آلودگی در طبیعت شناخته شد. در آلودگی های طبیعی یونجه، علائم ظاهری (سی ایزوله جمع آوری شده) گروههای سه گانه اختلافات قابل توجهی نشان میدهد (جدول ۱). بعلاوه بسیاری از گیاهان آزمون دیگر نیز در مایه زنیهای مکانیکی عکس العملهای کاملاً متفاوتی در مقابل سه ایزوله مورد بررسی از خود نشان دادند. در ضمن برخلاف گزارش برخی منابع مبنی بر حساسیت خیار به نژادهای ویروس موزائیک یونجه، هیچکدام از سه ایزوله مورد مطالعه قادر به آلوده کردن خیار بطریقه مکانیکی نشدند. گذشته از این، علائم ایجاد شده توسط این سه نژاد جدا شده روی بیش از ۵۰ گونه گیاه آزمون با نشانه های ناشی از اثر سایر نژادهای این ویروس روی همین گیاهان (۱ و ۲) مقایسه، و در بیشتر موارد اختلافات بارزی مشاهده گردید. بالاخره بررسی اثر سه ایزوله مورد بحث روی گیاهان میزبان در مایه زنیهای گلخانه ای باین نتیجه منتهی شد که این سه جدا شده بسهولت بر حسب علائمشان روی انواع لوبیا و لوبیاچشم بلبلی از یکدیگر متمایز میگردند (جدول ۳).

۳- دامنه تغییرات درجه حرارت بی اثر شدن هر سه ایزوله مورد مطالعه در محدوده تغییرات درجه حرارت بی اثر شدن ویروس موزائیک یونجه (۷۰-۵۰ درجه سانتیگراد) قرار گرفت. بعلاوه آخرین حد ترقیق هر سه ایزوله نیز در محدوده ارقامی (۱۰^{-۵} - ۱۰^{-۳}) قرار گرفت که برای نژادهای مختلف این ویروس گزارش گردیده است (جدول ۲). در مورد دوام ویروس موزائیک یونجه در محیط خارج سلولی (*in vitro*) ضمن تأیید عقیده زومیر بنظر میرسد نظریه پیرس مبنی بر اینکه ویروس مزبور استعداد عفونت زائی خود را در عصاره آلوده بمدت ۷-۹ روز حفظ می کند صحیح نباشد.

۴- انتقال مکانیکی هر سه ایزوله در بسیاری از میزبانهای حساس بسهولت انجام پذیرفت ولی عکس العمل برخی از این میزبانها در مقابل آلودگی بوسیله سه ایزوله متفاوت بود، در ضمن انتقال بطریقه مکانیکی در گیاه یونجه بسختی عملی گردید انتقال ایزوله AMV_L از طریق بذر ارقام یونجه یزدی، شیرازی و بمی تأیید و حداکثر

جدول ۳- میزبانهای طبیعی ویروس موزائیک یونجه در ایران و اثر نژادهای مختلف این ویروس روی گیاهان
آزمون در مایه زنی های گلخانه ای

نژادهای ویروس موزائیک یونجه AMN			نوع میزبان	ردیف
AMV _N	AMV _S	AMV _L		
SM?	YM?	SM?	<i>Apium graveolens</i> *	۱ کرفس
SM?	SM?	SM?	<i>Carthamus tinctorius</i> *	۲ گلرنگ
S/CLL	S/CLL	CLL	<i>Chenopodium album</i> *	۳ سلمه
CLL/S	CLL/S	CLL/S	<i>Ch. amaranticolor</i>	۴ سلمه
CLL/S	CLL/S	CLL	<i>Ch. quinoa</i>	۵ سلمه
YM?	YM?	YM?	<i>Cicer arietinum</i> *	۶ نخود ایرانی
SM/N	SM/N	SM/N	<i>C. ar. Var ghazvin</i>	۷ نخود قزوین
?	-	-	<i>Cucumis sativus var. Kashan</i>	۸ خیار کاشان
YM	YM	-	<i>Datura stramonium</i>	۹ تاتوره
NLL	SM	SM	<i>Gomphrena globosa</i>	۱۰ گل تکمه ای
-	-	-	<i>Medicago hispida</i>	۱۱
YM?	YM?	SM?	<i>M. lupulina L.</i> *	۱۲ یونجه
YV/D	YM	SM	<i>M. sativa L.</i> *	۱۳ یونجه معمولی
YM?	YM?	YM?	<i>Melilotus alba Des</i> *	۱۴ یونجه وحشی
SM?	SM?	SM?	<i>Lens esculenta Moemch</i> *	۱۵ عدس
SM?	YM?	SM?	<i>Lactuca sp.</i> *	۱۶ کاهو
S/N	S/N	S/N	<i>Lens esculenta var. ghazvin</i>	۱۷ عدس قزوین
NLL	NLL	?	<i>Lupinus albus</i>	۱۸ لوپن
?	YM	?	<i>Lupinus terris</i>	۱۹ لوپن
SM	NLL/S	SM	<i>Nicotiana glutinosa</i>	۲۰ توتون
SM	SM	SM	<i>N. rustica</i>	۲۱ توتون
SM	SM	SM	<i>N. tabacum var. samsun</i>	۲۲ توتون
?	?	?	<i>N. t. Var. turkish</i>	۲۳ توتون
SM	SM	SM	<i>N. t. Var White burley</i>	۲۴ توتون
YM/C	SM	SM	<i>N. t. var. xanthia</i>	۲۵ توتون
SM	YM/M?	SM/	<i>Phaseolus vulgaris</i> *	۲۶ لوبیا
NLL/VN	CLL/YM	NLL	<i>Ph. v. var. Bountiful</i>	۲۷ لوبیای رقم
NLL/VN	NLL/RS/S	NLL	<i>Ph. v. var. Pinto 111</i>	۲۸ لوبیای رقم
SM?	YM?	SM?	<i>Phaseolus aureus</i> *	۲۹ ماش

دنباله جدول ۳

نژادهای ویروس موزائیک یونجه AMN			نوع میزبان	ردیف
AMV _N	AMV _S	AMV _L		
NLL/N	NLL/VN	NLL/VN	Oklahoma	۳۰ ماش رقم
?	?	VN/C	Berken	۳۱ ماش رقم
C/VN	C/VN	C/VN	Kilago	۳۲ ماش رقم
?	YM	NLL/S	<i>Phaseolus lunatus</i> var.	۳۳ لوبیای پهن برگ
			Jakson wonder	
?	S/NLL	C/N	<i>Pisum sativum</i> L.	۳۴ نخود فرنگی
SM?	YM?	SM?	<i>Portulaca oleracea</i> *	۳۵ خرفه
SM?	SM?	SM?	<i>Solanum nigrum</i> *	۳۶ تاج ریزی
MS/D?	MS/D?	MS/D?	<i>Trifolium sp.</i> *	۳۷ شبدر
YM?	YM?	YM?	<i>T. rytidoseminum</i> Hoh. *	۳۸ شبدر
?	?	SM	<i>T. r. var. azarbyejani</i>	۳۹ شبدر
?	?	SM	<i>T. subterraneum</i>	۴۰ شبدر
?	?	SM	<i>T. incarnatum</i>	۴۱ شبدر
?	?	I.	<i>Y. repens</i>	۴۲ شبدر
?	?	-	<i>T. officinalis</i>	۴۳ شبدر
?	?	-	<i>T. pratense</i> L.	۴۴ شبدر
YM?	YM?	MS?	<i>Trigonella foenum graecum</i> *	۴۵ شنبلیله
SM	YM	SM	<i>T. f. g. var. Varamin</i>	۴۶ شنبلیله رقم ورامین
SM	YM?	SM/D?	<i>Vicia faba</i> L. *	۴۷ باقلا
NLL/VN	NLL/RS/N	NLL/RS/S/N	Algerian fabae	۴۸ باقلای الجزایری
SM?	YM?	SM?	<i>Vicia narbonensis</i> L.	۴۹
SM?	YM?	SM?	<i>V. sativa</i> L. *	۵۰ ماشک
M?	YM/M?	M?	<i>Vigna sinensis</i> L. *	۵۱ چشم بلبلی
NLL/NV?	NIL/YM	NLL	Early Ramshorn	۵۲ چشم بلبلی رقم
-	YM	-	<i>Zinnia elegans</i> Jacq	۵۳ گل آهار
?	SY/YM	SM	Cocker	۵۴ سوزای رقم

CLL = لکه های کلروتیک موضعی

N = نکروز

- = بدون اثر

Mottling = M

NLL = لکه های نکروتیک موضعی

YM = موزائیک زرد

RS = نقش حلقوی

SM, M? = مشکوک

SM = موزائیک سیستمیک

VN = نکروز آوندی

C = کلروز

? = مایه زنی انجام نگرفت

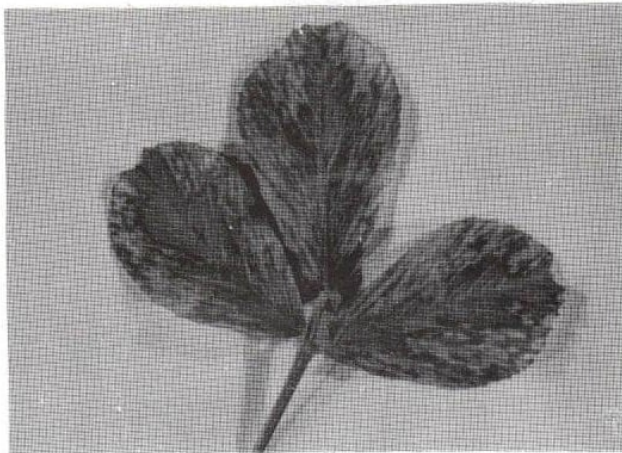
* میزبانهای طبیعی ویروس موزائیک یونجه در ایران

انتقال بمیزان ۸٪ در واریتد می تعیین شد. دو ایزوله AMV_L و AMV_S بوسیله سس منتقل، ولی انتقال ایزوله AMV_N مورد بررسی قرار نگرفت. ایزوله AMV_L بوسیله دو شته سیاه باقلا و "سبز هلو" نیز بطریقه ناپایا منتقل گردید. در شته سیاه باقلا گرسنگی دادن شته ها بمدت یکساعت قبل از تغذیه درصد آلودگی را بالا برد (۳۳٪) درحالیکه شته های غیرگرسنه به نسبت کمتری ویروس مزبور را منتقل مینمایند (۲۰٪) از طرفی گرسنگی دادن شته ها بعد از برداشت ویروس بمدت یک ساعت قدرت انتقال را در آنها از بین میبرد (صفر درصد).

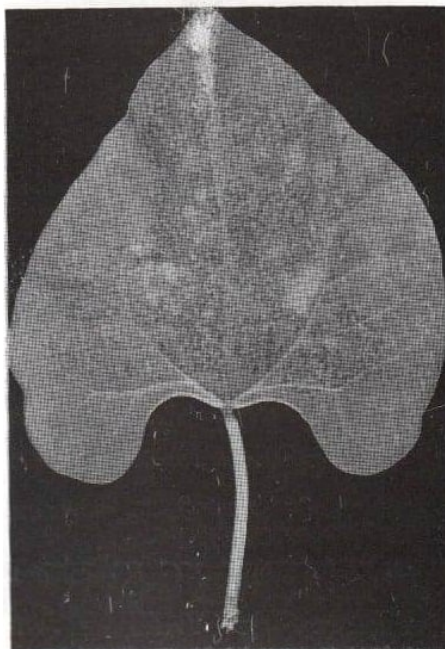
۵- قرابت دو ایزوله AMV_L و AMV_S با آزمایشات حفاظت متقابل و همبستگی هر سه ایزوله نیز از طریق آزمایشات سرولوژیکی با استفاده از آنتی سرم ویروس موزائیک یونجه دریافت شده از یک منبع خارجی (L. Bos) و نیز با آنتی سرمی از این ویروس که در ایران تهیه شده بود مورد تأیید قرار گرفت (۲).
نتیجتاً "باتوجه به مطالب گذشته، و با در نظر گرفتن بقیه مندرجات جداول، سه ایزوله AMV_L و AMV_S و AMV_N بعنوان سه نژاد جدید ویروس موزائیک یونجه در ایران گزارش میگردد، اعتقاد نگارنده بر اینست که احتمالاً این ویروس در ایران دارای نژادهای ناشناخته دیگری نیز میباشد.

تشکر

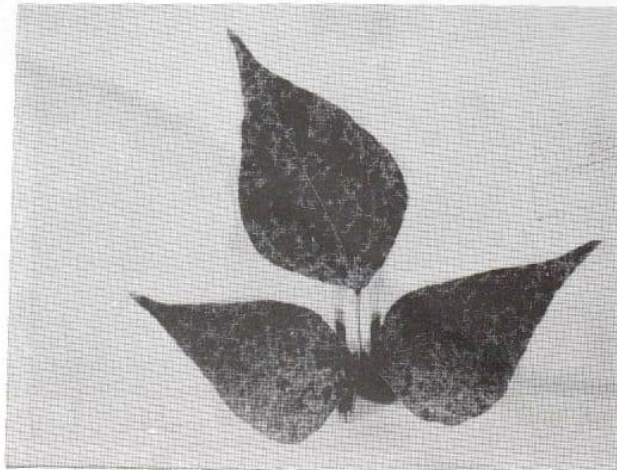
از آقایان دکتر فریور اسکندری و مهندس غلامحسین مصاحبی به جهت راهنماییهای مفید و ارزنده شان و آقایان دکتر نورالدین هابیلی و دکتر حسن خاوری بخاطر مرور مقاله و ارائه پیشنهادات اصلاحی سپاسگزاری میشود.



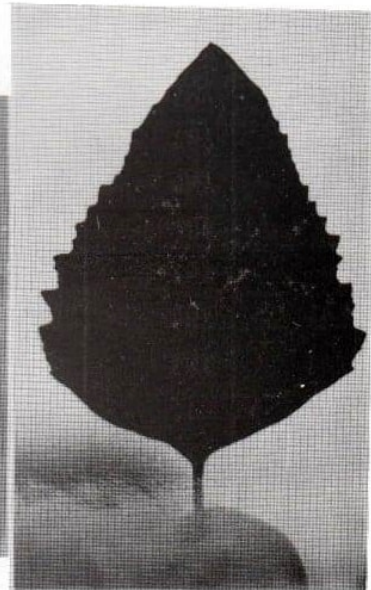
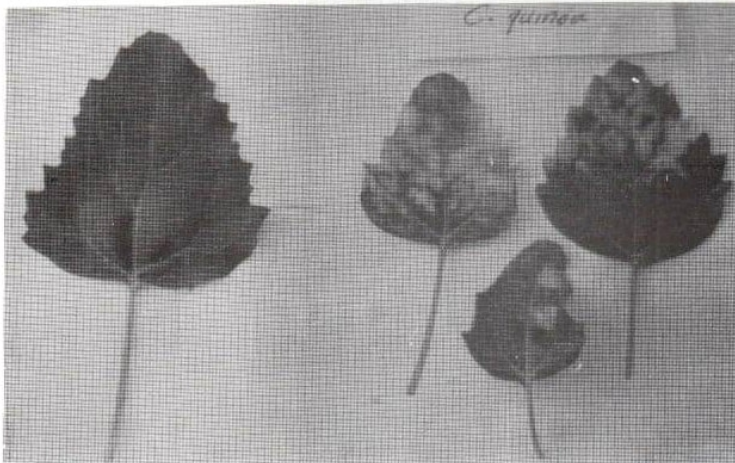
شکل ۱- در طبیعت علائم نژادی از ویروس موزائیک یونجه بصورت Motiling در برگهای یونجه نمایان میشود .



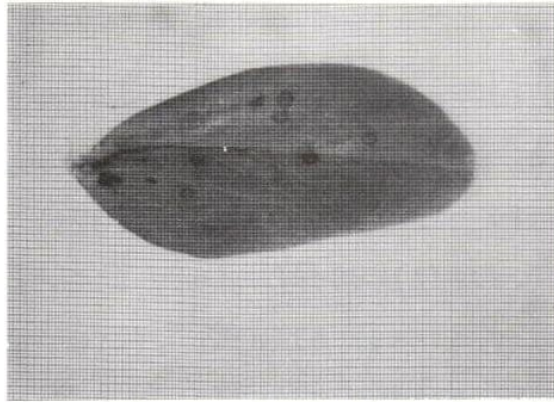
شکل ۲- نژاد AMV_L ۳-۲ روز بعد از مایه زنی روی برگهای لوبیای Bountiful زخمهای نکروتیک موضعی بقطر ۱-۲ میلیمتر و برنگ قهوه ای مایل بقرمز ایجاد مینماید .



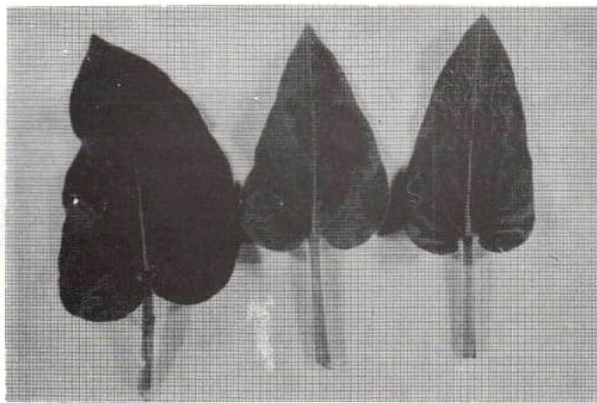
شکل ۳- نژاد AMV_S ویروس موزائیک یونجه ۱۵-۱۰ روز پس از مایه زنی
در برگهای بالائی لوبیای رقم Bountiful موزائیک زرد
ایجاد میکند.



شکل ۴- ویروس موزائیک یونجه ۱۵-۱۰ روز بعد از مایه کوبی مکانیکی در گیاهان
Ch. amaranticolor (سمت چپ) و *Chenopodium quinoa* (سمت راست)
سیستمیک میشود و علائم بصورت لکه های کلروتیک در
برگهای انتهائی نمایان میگردد.



شکل ۵- ویروس موزائیک یونجه در باقلای رقم الجزایری ۴-۵ روز بعد از مایه کوبی لکه های نکروتیک قهوه ای مایل به سیاه و قطر ۴-۵ میلیمتر ایجاد میکند.



شکل ۶- نژادی از ویروس موزائیک یونجه حدود یکماه بعد از مایه زنی در شرایط مساعد علائم نقش بلوطی در برگهای *Nicotiana glutinosa* از خود نشان میدهد.



شکل ۷- ویروس موزائیک یونجه در نخود رقم قزوین سبب مرگ جوانه انتهائی و خشک شدن بوته مبتلا میشود.

منابع

- 1- Agrios, G. (1969). Plant Pathology, Academic Press. 629 PP.
- 2- Alizadeh, A. (1975). Studies on some properties of alfalfa mosaic virus in Iran. M.Sc. thesis, (in Farsi), Tehran Univ.
- 3- Alizadeh, A. and G.M. Mossahebi, (1976). A study on the purification and preparation of alfalfa mosaic virus (AMV) in Iran, Sci. Agr. Jundi - Shapur Univ. 3: 1-7.
- 4- Bancroft, J.B., E.L. Moorhead, J. Tuite and H.P. Liu (1969). The antigenic characteristics and the relationship among strains of alfalfa mosaic virus, Phytopath. 50: 34-39.
- 5- Belli, G. (1962). Rilievi ed esperienze sulla trasmissione per seme del Virus mosaico della erba medica e dimostrazione della esclusione in clovi vite Virosati, Ann. Fac. Agric. di Milano. 10:15.
- 6- Berkeley, G.H. (1947). A strain of alfalfa mosaic virus on pepper in Ontario, Phytopath. 37:781-789.
- 7- Burke, D.W. (1963). Incidence of viruses infectious to beans in plants of twelve alfalfa varieties, Plant Dis. Rep. 43:645-847.
- 8- Dykstra, T.P. (1939). A study of viruses causing

- yellow mosaics in European and American varieties of the potato *Solanum tuberosum*, *Phytopath.* 26:917-933.
- 9- Frosheiser, F.I. (1964). Alfalfa mosaic virus transmitted through alfalfa seed, 54:893(Abstr.).
 - 10- Frosheiser, F.I (1974). Alfalfa mosaic virus transmission to seed through alfalfa gametes and longevity in alfalfa, *Phytopath.* 64:102-108.
 - 11- Halisky, P.M., B.R. Houston and A.R. Magie, (1960). Alfalfa mosaic virus in white clover and potatoes, *Plant. Dis. Rep.* 44:120-128.
 - 12- Hull, R. (1969). Alfalfa mosaic virus, *Advan. Virus Res.* 15:363-428.
 - 13- Kaiser, W.J. Danesh, D.,M. Okhovvat, Gh. Mossahebi, (1972). Virus diseases of pulse crops in Iran,Tehran, Univ. 111 P. (in Farsi).
 - 14- Kennedy,J.S., M.F. Day, and V.F. Eastop, (1962). A conspectus of aphids as vectors in plant viruses, Commonwealth Agr. Bureau. Eastern Press, London. 144 P.
 - 15- Manoochehri, K.A. (1967). Virus Diseases of Plants, Tehran Univ. 194 P. (in Farsi).
 - 16- Matisova, J. (1972). Transmission of alfalfa mosaic virus by aphids *Acyrtosiphum pisum* and *Myzus persicae*, *Biologia (Bratis)* 26: 871-879.
 - 17- Milbrath, J.A. and F.P. Mcwhorter. (1953). The reaction of tomato varieties to various strains of alfalfa mosaic virus, (Abst.) *Phytopath.* 43:479.
 - 18- Pierce, W.H. (1934), Viruses of the bean, *Phytopath.* 24:87-115.

- 19- Schmelzer, K. (1956). Beitrage zur Kenntniser
Ubertragbarkeit Von Viren durch Cuscuta-Arten,
Phytopath.Z. 28:1-56.
- 20- Schreoder, W.T. and R. Providenti, (1972). Alfalfa
mosaic virus in *Ajuga reptans*, Plant Dis. Rep.56:
285-290.
- 21- Steel, A. and R.N. Campbell (1971). Alfalfa mosaic
virus from carrot, pasley, Plant Dis. Rep. 55:322-325.
- 22- Weimer, J.L. (1931). Alfalfa mosaic, Phytopath. 21:
122-123.
- 23- Weimer, J.L. (1934). Study on alfalfa mosaic,
Phytopath. 24:239-247.
- 24- Zaumeyer, W.J. (1963). Two new strains of alfalfa
mosaic virus systemically infectious to bean,
Phytopath. 53:444-449.
- 25- Zaumeyer, W.J. and B.L. Wade, (1935). The relation-
ship of certain legume mosaic to bean. Jour. Agr.
Res. U.S. 51:715-749.
- 26- Zschaw, K. (1964). Nachrb1. Deut. Pflanzenschutz-
dienst, (Berlin) Nf 18:44.

THREE NEW STRAINS OF ALFALFA MOSAIC VIRUS IN IRAN

by: A. Alizadeh

College of Agriculture, Jundi-Shapur University, Ahvaz, Iran

SUMMARY

Thirty isolates of alfalfa infected with AMV were collected from different areas of Iran and separated into three groups (strains) based on their symptoms on *Phaseolus vulgaris* vars. Bountiful, Pinto 111 and *Vigna sinensis* var. Early Ramshorn.

The thermal inactivation point of the virus strains was between 60 and 70 C⁰ and their dilution end point varied between 10⁻³ and 10⁻⁵. The longevity *in vitro* varied from two to four days at 25 C⁰. Cross Protection test also indicated that the viruses were strains of AMV.

All isolates were easily transmitted to susceptible hosts using carborundum powder and phosphate buffer solution (pH = 7). Transmission through seeds of three alfalfa varieties were studied and the results were positive. The two isolates were transmitted by dodder from fenugreek to Yazdy alfalfa. AMV strains were transmitted most efficiently by *Aphis fabae* and *Myzus persicae* in greenhouse. Also a Period of starvation of the *Aphis fabae* preceding a short feeding period on a diseased plant greatly increased the amount of transmission over that obtained without such a Period of starvation.