

## Assessment of yield and soybean cultivars response to nepoviruses, and possible effect of Nepoviruses on soybean podding disorder

Samira Shameli<sup>\*1</sup>, Noah Shahrain<sup>2</sup>, Mohammad Reza Safarnejad<sup>3</sup>

1. Corresponding Author, Researcher and Ph.D. in Plant Pathology, Dept. of Plant Protection, Golestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Gorgan, Iran. E-mail: [shameli61@gamil.com](mailto:shameli61@gamil.com)
2. Professor, Dept. of Plant Virus, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran. E-mail: [shahrainnoah@gmail.com](mailto:shahrainnoah@gmail.com)
3. Professor, Dept. of Plant Virus, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran. E-mail: [mrsafarnejad@yahoo.com](mailto:mrsafarnejad@yahoo.com)

### Article Info

#### Article type:

Full Length Research Paper

#### Article history:

Received: 02.12.2022

Revised: 05.07.2022

Accepted: 06.27.2022

#### Keywords:

Nepovirus,  
Podding Disorder,  
Soybean,  
Sucker pest

### ABSTRACT

**Background and Objectives:** Soybean is a plant belonging to the Fabaceae family and is one of the most important oil seed in the world. The northern provinces of Iran are the main soybean cultivation regions in the country, but over the years, soybean podding disorder has reduced yield in this regions and caused up to 100% damage. The disorder is more severe in late planting farms, and symptoms can be observed as plant greening, accumulation of flowers and pods, abnormal pods, bud blight, and lack of seed in pod. The results of previous studies have shown the possible role of viruses in occurrence of soybean disorder. This research was conducted to investigate the Nepovirus effect on soybean yield and cultivars, and possible role on soybean podding disorder.

**Materials and Methods:** 770 soybean sample from Golestan provinces were collected before and after disorder appeared, and tested by DAS-ELISA and RT-PCR test for investigate the possible role of Nepovirus in disorder. The response of soybean cultivars to Nepovirus and soybean podding disorder, was evaluated in greenhouse and natural conditions. In greenhouse, 2 soybean cultivars (Katol and Saman) were inoculated mechanically at the 4-6 leaf stage. For comparison of soybean cultivars response to studied viruses and evaluation of possible role of Nepovirus on soybean podding disorder in natural condition, the experiment was performed in Golestan Agricultural Research center as a split plot design with three factors: using net, virus inoculation and soybean cultivars with 3 replications in two years. Nepoviruses inoculated on specific plots on soybean plants at 4-6 leaf stages. ELISA and RT-PCR tests were used to ensure the plants infection with inoculated viruses, and growth indices were measured at physiological growth stage. Data were analyzed by two-way ANOVA, and the means were compared with LSD test at 5% confidence level, using SPSS software version 16.0.

**Results:** Comparing of virus frequency in not disorder plants with podding disorder plants, did not show significant relationship between viruses and disorder incidence. In greenhouse, virus inoculation on soybean plants, caused chlorosis, stunt and systemic necrosis, but the typical symptoms of disorder such as severe falling of flowers, re-flowering, and plant greening did not show. In natural conditions, disorder was observed in all soybean cultivars, but disorder incidence was different among

---

cultivars, and Williams variety showed less disorder in four treatments. The highest and lowest plant growth indices were observed in non-inoculation virus with use of net treatment and, virus inoculation with no use of net, respectively. Mechanical virus inoculation on different soybean cultivars, although reduced growth indices and soybeans yield, but had no significant effect on the podding disorder. In treatments with not controlling of sucker pests, the incidence of disorder was significantly higher than other treatments.

**Conclusion:** Virus inoculation on soybean plants in greenhouse and natural conditions did not cause podding disorder syndrome. Viruses in soybean plants, reduce growth indices and aggravate disorder due to the stress they inflict on the soybean plant, but are not probably the cause of the disorder alone. In treatments with not controlling of sucker pests, disorder incidence was significantly higher, so the role of sucker pests was estimated effective and important.

---

Cite this article: Shameli, Samira, Shahraeen, Noah, Safarnejad, Mohammad Reza. 2023. Assessment of yield and soybean cultivars response to nepoviruses, and possible effect of Nepoviruses on soybean podding disorder. *Journal of Plant Production Research*, 29 (4), 165-183.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/JOPP.2022.19923.2917

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

---

## ارزیابی عملکرد و واکنش ارقام سویا به نیپوویروس‌ها و تأثیر احتمالی نیپوویروس‌ها بر عارضه اختلال در غلاف‌بندی سویا

سمیرا شاملی\*<sup>۱</sup>، نوح شهرآیین<sup>۲</sup>، محمدرضا صفرنژاد<sup>۳</sup>

۱. نویسنده مسئول، محقق و دکتری بیماری‌شناسی گیاهی، بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان، گرگان، ایران. رایانامه: [shameli61@gamil.com](mailto:shameli61@gamil.com)
۲. استاد بخش تحقیقات ویروس‌شناسی، مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران. رایانامه: [shahraeennoah@gmail.com](mailto:shahraeennoah@gmail.com)
۳. استاد بخش تحقیقات ویروس‌شناسی، مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران. رایانامه: [mrsafarnejad@yahoo.com](mailto:mrsafarnejad@yahoo.com)

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی	سابقه و هدف: سویا گیاهی متعلق به تیره بقولات و از مهم‌ترین دانه‌های روغنی در جهان است. استان‌های شمالی ایران عمده‌ترین مناطق کشت سویا در کشور می‌باشند اما در طی سالیان متمادی عارضه‌ای با نام اختلال در غلاف‌بندی سویا منجر به کاهش محصول در این مناطق شده و تا ۱۰۰ درصد خسارت وارد کرده است. عارضه اختلال در مزارع دیر کاشت شدیدتر است و با علایمی مانند سبز ماندن بوته‌ها، تجمع گل‌ها و غلاف‌ها، غلاف‌های غیرطبیعی، سوختگی جوانه و عدم تشکیل دانه در غلاف همراه است. مطالعات قبلی بیانگر نقش احتمالی ویروس‌ها در بروز عارضه اختلال بوده است. این پژوهش به منظور بررسی نقش نیپوویروس‌ها بر عملکرد و ارقام سویا، و نقش احتمالی آن‌ها در بروز عارضه اختلال در غلاف‌بندی سویا انجام شد.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۲۳ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۱/۰۲/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۴/۰۶	مواد و روش‌ها: به‌منظور بررسی نقش احتمالی نیپوویروس‌ها در بروز عارضه اختلال، تعداد ۷۷۰ نمونه سویا قبل و بعد از بروز عارضه اختلال از استان گلستان جمع‌آوری گردید و حضور نیپوویروس‌ها توسط آزمون‌های الایزا و RT-PCR مورد بررسی قرار گرفت. بررسی واکنش سویا نسبت به ویروس‌های مورد مطالعه و عارضه اختلال، در گلخانه و شرایط طبیعی انجام شد. در گلخانه دو رقم کنول و سامان در مرحله ۴ تا ۶ برگی به صورت مکانیکی مایه‌زنی شدند. به منظور مقایسه واکنش ارقام به ویروس‌های مورد بررسی و عارضه اختلال در شرایط مزرعه، آزمایشی به صورت طرح اسپلٹ پلات با سه عامل استفاده از توری جهت جلوگیری از فعالیت آفات، مایه‌زنی ویروس و ارقام سویا در سه تکرار و در دو سال پی‌پی در مرکز تحقیقات کشاورزی استان گلستان انجام شد. نیپوویروس‌ها در کرت‌های خاص روی بوته‌های
واژه‌های کلیدی: آفات مکنده، سویا، عارضه اختلال، نیپوویروس	

سویا در مرحله ۴-۶ برگی مایه‌زنی شدند. جهت اطمینان از آلودگی گیاهان به ویروس‌های تلقیح شده، از آزمون‌های ELISA و RT-PCR استفاده گردید و شاخص‌های رشد در مرحله رشد فیزیولوژیکی اندازه‌گیری شد. تجزیه داده‌ها با آزمون واریانس دوطرفه (ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح اطمینان ۵ درصد و با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۱۶) انجام گردید.

**یافته‌ها:** مقایسه فراوانی ویروس‌ها در بوته‌های دارای عارضه و فاقد عارضه، ارتباط معنی‌داری بین ویروس‌های مورد بررسی و عارضه اختلال در غلاف‌بندی نشان نداد. مایه‌زنی ویروس‌ها در بوته‌های سویا در گلخانه سبب بروز علائمی به صورت کلروز، کوتولگی بوته‌ها و نکروز سیستمیک شد اما علائم مشخص عارضه اختلال مانند ریزش شدید گل‌ها، گلدهی مجدد بوته‌ها و سبزماندن بوته‌ها ایجاد نگردید. در آزمایش اجرا شده در شرایط طبیعی، عارضه اختلال در همه ارقام مورد مطالعه مشاهده شد اما میزان وقوع آن در میان ارقام مختلف، متفاوت بود و رقم ویلیامز دارای کم‌ترین میزان اختلال در غلاف‌بندی در همه تیمارها بود. بیش‌ترین کم‌ترین میزان شاخص‌های رشدی به ترتیب در تیمار عدم مایه‌زنی ویروس و استفاده از توری، و تیمار مایه‌زنی ویروس و عدم استفاده از توری مشاهده شد. مایه‌زنی مکانیکی ویروس‌ها بر روی ارقام مختلف سویا اگرچه سبب کاهش شاخص‌های رشدی و کاهش عملکرد سویا گردید اما در ایجاد غلاف‌های دارای اختلال، تأثیر معنی‌داری نداشت. در تیمارهایی که کنترل آفات مکنده صورت نگرفته بود وقوع عارضه اختلال به‌طور معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها بیش‌تر بود.

**نتیجه‌گیری:** مایه‌زنی ویروس‌ها در بوته‌های سویا در گلخانه و شرایط طبیعی سبب بروز عارضه اختلال در غلاف‌بندی نگردید. ویروس‌ها در بوته‌های سویا به دلیل تنشی که به گیاه سویا وارد می‌آورند موجب کاهش شاخص‌های رشدی و تشدید عارضه می‌گردند اما به احتمال زیاد نمی‌توانند به تنهایی عامل بروز عارضه اختلال باشند. عارضه اختلال در تیمارهایی با عدم کنترل آفات مکنده به‌طور معنی‌داری بیش‌تر بود و بنابراین نقش آفات مکنده، مؤثر و مهم تلقی گردید.

**استناد:** شاملی، سمیرا، شهرآیین، نوح، صفرنژاد، محمدرضا (۱۴۰۱). ارزیابی عملکرد و واکنش ارقام سویا به نپوویروس‌ها و تأثیر احتمالی نپوویروس‌ها بر عارضه اختلال در غلاف‌بندی سویا. نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی، ۲۹ (۴)، ۱۸۳-۱۶۵.

DOI: 10.22069/JOPP.2022.19923.2917



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

### مقدمه

سویا (*Glycine max* L.) گیاهی یک ساله و دولپه متعلق به تیره بقولات و از مهم ترین محصولات دانه روغنی در جهان است. برزیل، آمریکا، آرژانتین، چین، هند، پاراگوئه و کانادا به عنوان کشورهای بزرگ تولیدکننده سویا معرفی شده اند (۱). عارضه اختلال در غلاف بندی سویا اولین بار در سال ۱۳۶۴ از استان

گلستان گزارش شد و باعث خسارت فراوان به مزارع سویا گردید. عارضه اختلال در غلاف بندی سویا با علائمی مانند رشد علفی بوته ها، تجمع گل ها، ریزش شدید گل ها، غلاف های غیر طبیعی، پیچیدگی و ضخیم شدن ساقه، سوختگی جوانه انتهایی و عدم تشکیل دانه در غلاف (شکل های ۱ و ۲) همراه است (۲).



شکل ۱- علائم عارضه اختلال به صورت تجمع گل ها و غلاف های غیر طبیعی در گیاه سویا.

Fig. 1. Symptoms of pod disorder on the accumulation of flowers and abnormal pods of soybean plant.

توتون را در بروز عارضه اختلال مطرح ساخت (۴). افشاری آزاد (۲۰۰۳) نقش ریزجانداران خاکزی قارچ مولد پوسیدگی زغالی (*Macrophomina phaseolina*) و قارچ های *Fusarium solani* و *Rhizoctonia solani* را در بروز عارضه اختلال در غلاف بندی سویا بررسی نمود (۵). گلنراقی و همکاران (۲۰۰۴) پراکنش سیزده عامل ویروسی سویا در پنج استان مازندران، گلستان، لرستان، اردبیل و خوزستان را بررسی نمودند. نتایج حاصله بیانگر آلودگی بالای مزارع سویای استان های مازندران و گلستان (به ترتیب ۱۸/۶ و ۱۵/۷ درصد) به عوامل ویروسی بود. هم چنین در بررسی نمونه های دارای عارضه اختلال از استان های مازندران و گلستان ۷/۱ درصد نمونه ها آلوده به عوامل ویروسی تشخیص داده شدند (۶). شاملی و همکاران (۲۰۱۲) وضعیت آلودگی ارقام مهم سویا شامل کتول، گرگان ۳، ویلیامز، پرشینگ و جی کا (jk) را به ویروس لکه حلقوی توتون بررسی

در سال های ۱۳۹۰ و ۱۳۹۴ عارضه اختلال در غلاف بندی سویا در سطح بسیار گسترده و با طیف های متفاوت در استان گلستان مشاهده شد، به نحوی که در سال ۱۳۹۰ حدود ۱۸ درصد، و در سال ۱۳۹۴ حدود ۳۹ درصد از کل سطح کشت سویا در استان گلستان با شدت های مختلف دچار عارضه اختلال گردید (۲). در سال های گذشته در زمینه علل پیدایش عارضه اختلال در غلاف بندی سویا بررسی های متفاوتی صورت گرفت و تأثیر عوامل زراعی از جمله تراکم بوته، تاریخ کاشت، دور آبیاری، کود، آفات و بیماری ها بررسی مقدماتی گردید. براساس نتایج به دست آمده، تیمارهای زراعی به کار رفته در زمینه های مختلف نتوانست شرایط مشابه عارضه را در بوته های سویا به وجود آورد (۳) اما بررسی های انجام شده در خصوص بیماری های ویروسی، احتمال دخالت ویروس های لکه حلقوی توتون، لکه حلقوی گوجه فرنگی و ویروس رگه

نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میزان آلودگی در چهار ناحیه استان گلستان (ناحیه غربی، مرکزی، شرقی و گرگان) بود (۷).

کردند. رقم کتول با ۵۰ درصد آلودگی و ارقام جی‌کا (jk) و گرگان ۳ بدون آلودگی، به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین میزان آلودگی را دارا بودند. نتایج پژوهش



شکل ۲- بوته‌های سویا دارای عارضه اختلال در غلاف‌بندی (راست) در مقایسه با بوته‌های سالم (چپ).

Fig. 2. Soybean plants with pod disorder (right) compared with healthy plants (left).

عارضه اختلال ساقه سبز سویا را با عوامل ویروسی بررسی نمودند (۱۲). در استرالیا نیز علایمی به صورت تشکیل فراوان گل‌های نارس، ایجاد غلاف‌های ناقص، و عدم تشکیل دانه در گیاه سویا و ماش مشاهده گردید. بوته‌های دارای عارضه تا زمان برداشت به رنگ سبز باقی می‌ماندند در حالی‌که بوته‌های فاقد عارضه تغییر رنگ داده و قهوه‌ای رنگ می‌شدند. مطالعات گوناگونی صورت گرفت و نقش عوامل مختلف ویروسی و فایتوپلاسمایی در بروز عارضه بررسی گردید (۱۳).

نیوویروس‌ها از مخرب‌ترین ویروس‌های گیاهی در سراسر جهان به‌شمار می‌آیند که غالباً دارای میزبان‌های طبیعی زیادی در بین گیاهان زینتی و غیرزینتی، درختان میوه و علف‌های هرز می‌باشند. پیکره اعضای این جنس حدود ۳۰ نانومتر است. نیوویروس‌ها متعلق به راسته *Picornavirales* خانواده *Secoviridae* و زیرخانواده *Comovirinae* می‌باشند (۱۴، ۱۵). ویروس‌های لکه حلقوی توتون (TRSV) لکه حلقوی گوجه‌فرنگی (ToRSV) و ویروس موزاییک آرابیس (ArMV) از مهم‌ترین

در سال ۱۹۵۵ برای اولین بار ارتباط بین سوختگی جوانه‌های سویا (*Bud blight*) با ویروس‌ها در برزیل مطرح شد (۸). در همان زمان علایم مشابهی توسط کاستا در آمریکا گزارش شد و چندین ویروس مانند *Tobacco ring spot virus* و *Tobacco streak virus* به‌عنوان عوامل ایجاد سوختگی جوانه سویا گزارش گردید (۹، ۱۰). در سال ۱۹۸۴ در آمریکا عارضه‌ای با نام *Soybean Bud Proliferation (SBP)* در سویا مشاهده شد که علایم به صورت تکثیر فراوان گل‌ها، عدم تشکیل غلاف و یا تشکیل غلاف‌ها به‌صورت ناقص بود. جهت تعیین عامل ایجادکننده عارضه، آزمایش‌های متعددی صورت گرفت و نقش عوامل میکوپلاسمایی و ویروسی (*Bean pod mottle virus*، *Soybean mosaic virus*، *Tobacco streak virus* و *Tobacco ringspot virus*) در بروز عارضه بررسی گردید (۱۱). عارضه سبزماندگی سویا یا اختلال ساقه سبز سویا که با تاخیر در پیری ساقه‌ها مشخص می‌شد به‌عنوان یک عارضه مهم در سال‌های متوالی سبب بروز خسارت می‌گردید. جهت بررسی عارضه موجود، هاب و همکاران (۲۰۰۶) امکان رابطه

نمونه برداری از مزارع جهت ردیابی ویروس ها و بررسی درصد آلودگی بعد از بروز عارضه: هم زمان با بروز عارضه و آشکار شدن علائمی مانند تغییر شکل و سوختگی جوانه، نکرز جوانه های انتهایی، تجمع غلاف های رشد نیافته، قطور شدن ساقه و سبز ماندن بوته ها، نمونه برداری از بوته های دارای علائم عارضه اختلال صورت گرفت و تعداد ۵۴۰ نمونه جمع آوری گردید که از این تعداد ۴۲۰ نمونه از بوته های دارای عارضه و ۱۲۰ نمونه از بوته های فاقد عارضه جمع آوری شد.

آزمون های سرولوژیکی و مولکولی جهت تشخیص نمونه های آلوده به ویروس: تعداد ۷۷۰ نمونه با روش DAS-ELISA و با استفاده از آنتی سرم چندهمسانه ای ویروس های ToRSV, TRSV و ArMV بر پایه روش کلارک و آدامز (۱۹۷۷) و طبق پروتکل شرکت تولیدکننده آنتی بادی (Bioreba Inc, Switzerland) مورد آزمون قرار گرفت (۱۶). جهت اطمینان و تأیید حضور ویروس ها در نمونه های الیزا مثبت، استخراج RNA کل با استفاده از کیت RNase Plant Mini Kit (Qiagen, Germany) انجام شد. ساخت رشته cDNA در حضور آنزیم Super Script reverse-transcriptase III طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. واکنش با استفاده از آغازگرهای قید شده در جدول ۱ که توسط وی و کلاور (۲۰۰۸) طراحی گردیده بود، انجام شد (۱۷). مطابق منبع موجود آغازگرها برای دو زیرگروه نپوویروس طراحی گردیده بود و با توجه به این که ویروس های مورد بررسی در این پژوهش نیز در دو زیرگروه بودند، بنابراین از دو جفت آغازگر استفاده گردید.

نپوویروس ها با دامنه میزبانی وسیع و گسترش جهانی می باشند که توسط بذر، شیر گیاهی، گونه های مختلفی از نماتدهای جنس *Xiphinema* و خانواده *Longidoridae* آفات مکنده و به طریقه مکانیکی منتقل می گردند (۱۴، ۱۵). با توجه به خسارت هر ساله عارضه اختلال در غلاف بندی سویا به کشاورزان استان گلستان، و نظر به تأثیر احتمالی نپوویروس های گیاهی در بروز عارضه اختلال و عدم وجود اطلاعات کامل از نقش ویروس ها، در قالب این پروژه تلاش شد تا ضمن ردیابی نپوویروس های مهم خسارت زا (ToRSV, TRSV, ArMV)، میزان درصد وقوع آن ها در مزارع دارای عارضه و مزارع فاقد عارضه مقایسه گردد. هم چنین سعی شد با آزمون های گلخانه ای و مزرعه ای نقش این ویروس ها در بروز پدیده اختلال بررسی، و ارقام متحمل به عارضه اختلال شناسایی گردد. انجام این پروژه با به کارگیری روش های زیست سنجی، سرولوژیکی و مولکولی انجام شد تا امکان بررسی دقیق هر یک از ویروس ها فراهم گردد.

### مواد و روش ها

نمونه برداری از مزارع جهت ردیابی ویروس ها و بررسی درصد آلودگی قبل از بروز عارضه: نمونه برداری از مناطق سویاکاری استان گلستان طی سال های ۹۷-۹۵ به صورت هدفدار انجام شد و ۲۳۰ نمونه برگی در مراحل ابتدایی کشت سویا و بر حسب علائمی مثل زردی و کوتولگی، تغییر شکل، بدشکلی بوته ها، نکرز و کلروز و پیچش برگ از شهرستان های گرگان (۷۰ نمونه)، علی آباد (۴۰ نمونه)، کردکوی (۳۰ نمونه)، آزادشهر (۳۰ نمونه)، مینودشت (۳۰ نمونه) و کلاله (۳۰ نمونه) جمع آوری گردید.

جدول ۱- توالی‌های آغازگرهای الیگونوکلوئیدی مورد استفاده در آزمون RT-PCR (۱۷).

**Table 1. sequences of oligonucleotide primers used for RT-PCR (17).**

توالی Sequence (5'-3')	موقعیت Location	اندازه Size
ACDTCWGARGGITAYCC RATDCCYACYTGRCWIGGCA	RdRp gene	~340 bp
TCTGGITTTGCYTTRACRGT CTTRTCACTVCCATCRGTAA	RdRp gene	~250 bp

آن بوته‌ها در گلخانه در دمای ۱۸-۲۲ درجه سانتی‌گراد تحت شرایط عاری از آفات قرار داده شدند. نمونه‌های شاهد تنها با بافر مایه‌زنی گردید. پس از مایه‌زنی علایم به صورت روزانه بررسی شد و از الیزا و RT-PCR جهت اثبات آلودگی استفاده گردید.

بررسی واکنش ارقام سویا نسبت به ویروس‌ها و عارضه اختلال در غلاف‌بندی سویا در شرایط مزرعه: به منظور مقایسه واکنش همه ارقام سویای مورد کشت در استان گلستان به نپوویروس‌های موردنظر در شرایط مزرعه، و همچنین جهت بررسی پدیده اختلال در غلاف‌بندی سویا، آزمایشی در شرایط مزرعه و در دو سال پیاپی انجام شد. آزمایش به صورت طرح اسپیل پلات (کرت‌های یک بار خرد شده) با سه فاکتور استفاده از توری جهت جلوگیری از فعالیت آفات، مایه‌زنی ویروس و ارقام رایج سویا (ویلیامز، امیر، کتول، سامان و ساری) در سه تکرار انجام شد (جدول ۲). هر کرت آزمایشی شامل ۵ ردیف کاشت و به طول ۴ متر در نظر گرفته شد. فاصله تیمارها از همدیگر ۱/۵ متر و فاصله تکرارها از هم یک متر در نظر گرفته شد. بذور سویا در زمان مناسب و مطابق تاریخ کاشت عرف منطقه کشت گردید. پس از سبز شدن بذور و در مرحله کوتیلدونی بوته‌ها، جهت جلوگیری از فعالیت آفات (و ممانعت از انتقال همه عوامل ویروسی دارای ناقل

خالص‌سازی زیستی و مایه‌کوبی بر روی گیاهان محک: خالص‌سازی زیستی ویروس‌ها بر روی سلمک (*Chenopodium quinoa*)، لوبیا چشم‌بلبلی (*Cucumis sativus*) و خیار (*Vigna unguiculata*) انجام شد و از گیاهان *Nicotiana. tabacum cv.* *Phaseolus vulgaris* و *Cucumis sativus samsun* به عنوان میزبان تکثیری استفاده شد. برای مایه‌زنی ویروس بر روی گیاهان محک از بافر فسفات ۰/۰۱ مولار با pH = ۷/۲ استفاده گردید.

بررسی واکنش ارقام سویا نسبت به ویروس‌ها در شرایط گلخانه: جهت بررسی واکنش سویا به نپوویروس‌ها در گلخانه، از دو رقم اصلی مورد کشت در استان گلستان (که بیش‌تر دچار عارضه اختلال می‌شوند) استفاده گردید. براساس پژوهشی که توسط شاملی و همکاران (۲۰۱۲) صورت گرفته بود رقم کتول (دی‌پی‌ایکس) دارای بیش‌ترین میزان آلودگی به TRSV بود (۱۸). بذور درون گلدان‌های پلاستیکی به ارتفاع ۲۵ و قطر ۲۴ سانتی‌متر حاوی خاک مناسب (soil-sand-peat ۱:۱:۱) کشت گردید. ارقام کشت شده سویا در مرحله ۴ تا ۶ برگی به صورت مکانیکی مایه‌زنی شدند. جهت بررسی اثر ویروس‌ها، آلوده‌سازی بوته‌ها هم به صورت مایه‌زنی تک ویروس و هم به صورت مایه‌زنی مخلوط صورت گرفت. بوته‌های مایه‌زنی شده با آب مقطر استریل شسته و به مدت ۱۲ ساعت در مکان تاریک قرار گرفت. پس از



بوته‌های سویا دیده می‌شود، جهت تطابق با شرایط طبیعی و بررسی اثر نیپوویروس‌ها بر عارضه اختلال، مایه‌زنی ویروس‌ها به صورت مخلوط صورت گرفت. (مایه‌زنی تک به تک با ویروس‌ها در قسمت گلخانه انجام گردید).

آفات) توری‌های ممانعت‌کننده ورود آفات بر روی کرت‌های مورد نظر قرارگرفت و مایه‌زنی مخلوط ویروس‌ها در کرت‌های موردنظر در مرحله ۴ تا ۶ برگی انجام شد. با توجه به این‌که در طبیعت آلودگی به نیپوویروس‌ها معمولاً به صورت هم‌زمان در

جدول ۲- تیمارهای اعمال شده جهت بررسی واکنش ارقام سویا در شرایط طبیعی.

Table 2. Treatments applied to investigate the response of soybean cultivars under natural conditions.

عامل مورد بررسی Factor examined	تیمارهای آزمایش Experimental treatments
ویروس Virus effect	مایه‌کوبی ویروس + استفاده از توری virus inoculation+net
ویروس و آفات Virus and pest effect	مایه‌کوبی ویروس + عدم استفاده از توری virus inoculation+ no net
عدم حضور ویروس و آفات No virus and no pest effect	عدم مایه‌کوبی ویروس + استفاده از توری no virus inoculation+ net
آفات Pest effect	عدم مایه‌کوبی ویروس + عدم استفاده از توری no virus inoculation+ no net

### نتایج و بحث

نتایج نمونه‌برداری از مزارع جهت ردیابی ویروس قبل از بروز عارضه: تعداد ۲۳۰ نمونه سویا قبل از بروز عارضه به صورت هدفدار و بر حسب علائمی مثل زردی و کوتولگی، تغییر شکل، بدشکلی، نکروز و کلروز، و پیچش برگ انتخاب و جمع‌آوری گردید. بالاترین میزان آلودگی در نمونه‌های سویا قبل از بروز عارضه اختلال و بر اساس علایم بیماری‌های ویروسی مربوط به ویروس موزاییک آرابیس (ArMV) با ۳۰/۴ درصد آلودگی بود. میزان آلودگی به ویروس‌های TRSV و ToRSV به ترتیب ۸/۷ و ۵/۶۵ تعیین گردید.

نتایج نمونه‌برداری از مزارع جهت ردیابی ویروس بعد از بروز عارضه: تعداد ۵۴۰ نمونه سویا پس از بروز عارضه اختلال در مزارع استان، از بوته‌های دارای علایم عارضه و بوته‌های فاقد علایم عارضه

مایه‌زنی بوته‌ها در زمین در غروب و در هوای خنک صورت گرفت. ارزیابی مشاهده‌ای تأثیر مایه‌کوبی ویروس از ۵ روز پس از مایه‌زنی ویروس تا زمان غلاف‌دهی انجام شد. جهت اطمینان از آلودگی بوته‌های مایه‌زنی شده، از آزمون الیزا و RT-PCR استفاده گردید. از هر کرت ۲۵ بوته (۵ بوته برای هر رقم) انتخاب شد و شاخص‌های رشدی (ارتفاع بوته‌ها، تعداد گره، تعداد و وضعیت غلاف‌ها، وزن خشک و تر بوته‌ها) و عملکرد در مرحله رسیدگی فیزیولوژیکی اندازه‌گیری شد. تجزیه داده‌ها با آزمون واریانس دوطرفه (ANOVA)، و مقایسه میانگین‌ها و مقایسه با گروه شاهد با آزمون LSD در سطح اطمینان ۵ درصد انجام گردید. مقایسه میانگین پارامترهای اندازه‌گیری شده در دو سال ۹۵ و ۹۶ با آزمون t-test در سطح اطمینان ۵ درصد و با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شد.

۲۳/۵ درصد نمونه‌ها آلودگی به ArMV را نشان دادند. نتایج میزان آلودگی بوته‌ها به تفکیک در جدول ۳ آورده شده است.

جمع‌آوری شد. نتایج حاصل نشان داد که از مجموع ۵۴۰ نمونه جمع‌آوری شده، ۱۰ درصد نمونه‌ها آلودگی به TRSV، ۳/۸ درصد نمونه‌ها آلودگی به ToRSV و

جدول ۳- نتایج درصد آلودگی نمونه‌های دارای عارضه اختلال و بدون عارضه به تفکیک هر یک از ویروس‌های ردیابی شده طی سال‌های ۹۵ و ۹۶.

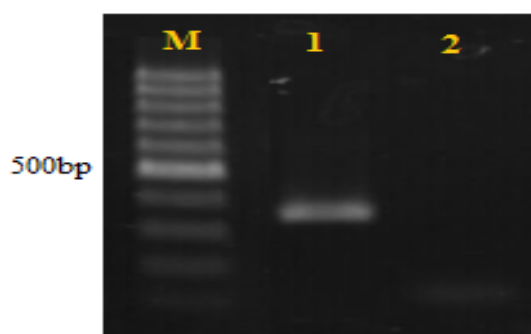
**Table 3. The percentage of virus infection in disorder and non disorder samples for each virus detected during the years 2016 and 2017.**

درصد آلودگی ویروس percentage of virus infection	تعداد نمونه‌های فاقد عارضه Number of not disorder sample	درصد ویروس virus percentage	تعداد نمونه‌های دارای عارضه Number of disorder sample	ویروس virus
18.3	120	25	420	ArMV
8.4	120	10.5	420	TRSV
2.5	120	4.4	420	ToRSV

براساس آنالیزهای آماری تفاوت معنی‌داری در میزان فراوانی ویروس‌های TRSV، ToRSV و ArMV در بوته‌های دارای عارضه اختلال و بوته‌های فاقد عارضه مشاهده نگردید.

نتایج استخراج RNA و آزمون RT-PCR: به‌وسیله آغازگرهای دجنره قطعاتی به طول ۳۴۰ و ۲۵۰ جفت باز (در بوته‌های دارای نتیجه مثبت در آزمون الایزا) در واکنش RT-PCR به‌دست آمد در حالی‌که این قطعات در نمونه‌های سالم تکثیر نشد (شکل ۳).

بر اساس نتایج به‌دست آمده، آلودگی به ویروس‌های TRSV، ToRSV و ArMV هم در بوته‌های دارای عارضه و هم در بوته‌های فاقد عارضه مشاهده گردید (جدول ۳). درصد آلودگی به TRSV در بوته‌های دارای عارضه ۱۰/۵ درصد و برای بوته‌های فاقد عارضه ۸/۴ درصد تعیین شد. ۴/۴ درصد بوته‌های دارای عارضه و ۲/۵ درصد بوته‌های فاقد عارضه آلوده به ToRSV بودند. هم‌چنین درصد آلودگی به ArMV در بوته‌های دارای عارضه ۲۵ درصد و در بوته‌های فاقد عارضه ۱۸/۳ درصد تعیین گردید.



شکل ۳- الکتروفورز محصول RT-PCR در ژل آگارز یک درصد با آغازگر دجنره. M: نشانگر مولکولی (Fermentas, 100 bp) راهک ۱: نمونه آلوده به TRSV، راهک ۲: شاهد منفی.

**Fig. 3. Results of RT-PCR using degenerate primer. M: DNA ladder (Fermentas, 100 bp) Lane 1 TRSV infected sample, Lane 2 negative control.**

نتایج علایم ایجاد شده در اثر مایه زنی ویروس ها در گیاهان محک: علایم ایجاد شده در گیاهان محک  
توسط ویروس های مورد بررسی به شرح جدول ۴ مشاهده گردید.

جدول ۴- علایم مشاهده شده در گیاهان محک مایه زنی شده با ToRS, ArMV و TRSV به طریقه مکانیکی.

**Table 4. Observed symptoms on indicator plants inoculated mechanically with TRSV, ToRSV and ArMV.**

Indicator plants	TRSV	ToRSV	ArMV
<i>Chenopodium quinoa</i>	NLL	CLL	CLL
<i>Vigna unguiculata</i>	CLL, SN	CLL	CLL
<i>Vicia faba</i>	ND	ND	ND
<i>Phaseolus vulgaris</i>	NLL, SN	CLL, SN	CLL, SN
<i>Cucumis sativus</i>	CLL, LD	CLL, LD	CLL
<i>Nicotiana benthamiana</i>	ND	ND	ND

CLL: لکه های موضعی کلروتیک، NLL: لکه های موضعی نکروتیک، SN: نکروز سیستمیک، LD: بدشکلی برگ، ND: نامشخص  
CLL: chlorotic local lesion, NLL: necrotic local lesion, SN: systemic necrosis, LD: leaf deformation, ND: not determined

گلدهی مجدد بوته ها مشاهده می شود که به دلیل عدم وجود فرصت کافی، گل ها و غلاف های ناشی از آن تکامل پیدا نکرده و غلاف ها معمولاً به شکل ناکامل، ناقص و خمیده تشکیل می گردند و یا ریزش می کنند، غلاف ها گاهی بدون دانه هستند و بوته ها نیز ممکن است پاکوتاه، خشن و سبز باقی بمانند. علایم ایجاد شده در بوته های مایه زنی شده با ویروس ها در گلخانه به صورت ایجاد لکه های نکروتیک، کوتولگی و کاهش ارتفاع بوته و نکروز سیستمیک قابل مشاهده بود (شکل ۴، جدول ۵) اما علایم مشخص عارضه اختلال مانند ریزش شدید گل ها، گلدهی مجدد بوته ها و سبز ماندن بوته ها در بوته های مایه زنی شده در گلخانه مشاهده نگردید.

واکنش ارقام سویا نسبت به ویروس ها در شرایط گلخانه: با توجه به این که در برخی از بوته ها و مزارع فاقد عارضه نیز، آلودگی به سه ویروس مورد بررسی مشاهده گردید، جهت اطمینان از تأثیر این ویروس ها بر عارضه اختلال و بررسی واکنش بوته های سویا، مایه زنی در گلخانه بر روی بوته های سویا انجام شد. در بوته های مایه زنی شده علایم به صورت ایجاد لکه های نکروز، کوتولگی بوته ها و نکروز سیستمیک قابل مشاهده بود و کاهش ارتفاع بوته های مایه زنی شده نسبت به نمونه های شاهد در هر دو رقم سامان و کنترل مشاهده گردید (شکل ۴).

در شرایط طبیعی مزارع علایم عارضه اختلال در بوته های مبتلا به صورت ریزش شدید گل ها و



شکل ۴- کوتولگی و نکروز در بوته‌های مایه‌کوبی شده در مقایسه با نمونه شاهد در رقم سامان (a) و کتول (b).  
**Fig. 4. Stunting and necrosis in inoculated plants compared with control sample in Saman (a) and Katol (b) cultivars.**

جدول ۵- علایم ایجاد شده بر اثر مایه‌کوبی ویروس‌ها در ارقام سامان و کتول در گلخانه.

**Table 5. Smpotms of virus inoculation in Saman and Katoul cultivars in greenhouse.**

	TRSV	ToRSV	ArMV	Mixed infectin
Saman	N, SN,S	N, SN	Chl	SN,S
Katol	N, SN,S	N, SN	Chl	SN,S

Chl: کلروز، N: نکروز، SN: نکروز سیستمیک، S: کوتولگی

Chl: hlorosis, N: necrosis, SN: systemic necrosis, S: stunt

ساری، سامان و کتول بیش‌تر بود اما به دلیل عملکرد بالاتر این ارقام نسبت به ارقام امیر و ویلیامز، غلاف‌های تشکیل شده تا حدی جبران غلاف‌های دارای اختلال را نمود. در همه ارقام بیش‌ترین شاخص‌های رشدی (ارتفاع بوته، تعداد گره، تعداد غلاف‌های سالم، وزن‌تر و خشک) در تیمار عدم مایه‌زنی ویروس و استفاده از توری، و کم‌ترین شاخص‌های فوق در تیمار مایه‌زنی ویروس و عدم استفاده از توری مشاهده شد.

کاهش ارتفاع بوته، تعداد گره، وزن‌تر و خشک بوته‌ها در دو تیمار مایه‌زنی شده با ویروس‌ها معنی‌دار بود و تیمارهایی که در آن‌ها مایه‌زنی ویروس صورت گرفته بود عملکرد کم‌تری را نشان داد (جدول‌های ۶ و ۷). مایه‌زنی مکانیکی ویروس‌ها بر روی ارقام مختلف سویا اگرچه سبب کاهش شاخص‌های رشدی سویا گردید ولی در ایجاد غلاف‌های دارای اختلال، تأثیر معنی‌داری نداشت ( $P>0/05$ ). کم‌ترین و

شاملی و همکاران (۲۰۱۹) تأثیر TSV بر ارقام سویا و اثر احتمالی آن بر عارضه اختلال در غلاف‌بندی را در شرایط گلخانه بررسی نمودند. براساس نتایج، مایه‌زنی TSV سبب آلودگی همه ارقام در گلخانه گردید اما علایم مشخص عارضه اختلال در بوته‌های مایه‌زنی شده در گلخانه مشاهده نشد (۱۹).

**نتایج واکنش ارقام سویا به ویروس‌ها در شرایط مزرعه:** تعداد غلاف یکی از مهم‌ترین عوامل افزایش عملکرد در سویا است. عوامل بیماری‌زا و شرایط نامساعد می‌توانند بر تعداد و کیفیت غلاف‌های سالم بوته‌ها تأثیر گذارند و آن را کاهش دهند. در همه ارقام سویای مورد مطالعه، غلاف‌های دارای اختلال مشاهده گردید اما میزان وقوع عارضه در میان ارقام مختلف، متفاوت بود و رقم ویلیامز در هر چهار تیمار نسبت به سایر ارقام دارای کم‌ترین میزان اختلال در غلاف‌بندی بود. عارضه اختلال در ارقام دیررس

دارای عارضه و زنجیره‌های موجود در مزرعه صورت گرفت و مایه‌زنی عصاره گیاهان دارای عارضه و رهاسازی زنجیره‌ها در شرایط گلخانه انجام شد. مایه‌زنی عصاره در انتقال عارضه موفق نبود و علایمی را در بوته‌ها ایجاد نمود اما بوته‌هایی که به وسیله زنجیره‌ها مورد تغذیه قرار گرفته بودند علایم SBP را نشان دادند. بررسی بوته‌های دارای عارضه در گلخانه و زنجیره‌های ناقل بیانگر وجود مایکوپلازما در هر دو مورد بود و بنابراین مایکوپلازما به عنوان عامل احتمالی عارضه SBP معرفی گردید (۱۱). هاب و همکاران (۲۰۰۶) نیز امکان رابطه عارضه اختلال ساقه سبز سویا با عوامل ویروسی به خصوص ویروس ماتل غلاف لویا (*Bean pod mottle virus*) را بررسی نمودند. براساس نتایج به دست آمده از پایش مزارع، درصد گیاهان آلوده به BPMV بیش‌تر از درصد بروز عارضه اختلال بود به نحوی که بسیاری از گیاهان آلوده به BPMV دچار عارضه اختلال ساقه سبز نبودند و برعکس بسیاری از گیاهان دارای اختلال ساقه سبز، آلودگی به BPMV را نشان ندادند. تجزیه آماری نیز نشان داد که اختلال ساقه سبز مستقل از آلودگی به BPMV بود و هیچ رابطه علت و معلولی بین آلودگی به BPMV و عارضه ساقه مشاهده نگردید. هم‌چنین نتایج نشانگر این بود که اختلال ساقه سبز سویا می‌تواند بدون آلودگی به BPMV ایجاد گردد. BPMV باعث افزایش بروز اختلال ساقه سبز در مقایسه با گروه شاهد نشد و مجموعه‌ای از عوامل مانند رطوبت کم خاک، کمبود پتاسیم، جهش ژنتیکی در گیاهان سویا و خسارات آفات به عنوان عوامل تأثیرگذار بر عارضه معرفی گردید (۱۲). نتایج بررسی‌های شارمن و همکاران در خصوص تعیین عوامل مؤثر بر عارضه اختلال سویا در استرالیا نشانگر آلودگی بالای بوته‌های مورد بررسی به فایتوپلازما بود، به نحوی که ۷۰ درصد بوته‌های دارای عارضه آلوده به فایتوپلازما

بیش‌ترین میزان تعداد غلاف‌های سالم به ترتیب در تیمارهای مایه‌زنی ویروس و عدم استفاده از توری و عدم مایه‌زنی ویروس و استفاده از توری مشاهده شد. در تیمارهای با عدم کنترل آفات مکنده فارغ از مایه‌زنی یا عدم مایه‌زنی ویروس، اختلال در غلاف‌بندی ارقام به‌طور معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها بیش‌تر بود. از سوی دیگر نوع علایم و میزان غلاف‌های دارای عارضه در دو تیمار دارای آلودگی به ویروس‌ها متفاوت بود. در تیمار مایه‌زنی ویروس به همراه استفاده از توری، علایم به صورت بدشکلی برگ، کوتولگی بوته‌ها و کاهش تعداد غلاف‌های سالم مشاهده شد ولی در تیمار مایه‌زنی ویروس به همراه عدم استفاده از توری علاوه بر علایم ذکر شده، غلاف‌های دارای عارضه اختلال نیز مشاهده گردید که با توجه به مایه‌زنی مشابه و آلودگی به ویروس‌ها در هر دو تیمار و کنترل متفاوت آفات در دو تیمار فوق‌الذکر، نقش آفات مکنده در بروز عارضه اختلال مؤثر و کلیدی‌تر به نظر رسید.

تولید محصول سویا تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله تنش‌های زنده (پاتوژن‌ها) و غیرزنده (شوری، گرما، خشکسالی، گرما، فلزات سنگین خاک و تراکم) می‌باشد (۲۰). در میان استرس‌های زیستی، فایتوپلازماها و ویروس‌ها مهم‌ترین عاملی هستند که با خسارت ۴۱-۲ درصدی بهره‌وری این محصول را کاهش می‌دهند (۲۱). طبق گزارش‌های اخیر، مشخص گردیده که چندین عامل زنده در سویا منجر به کاهش قدرت گرده (۲۲)، تولید گل‌های غیرطبیعی، بد شکلی کاسبرگ‌ها، سبزدی، فیلودی (۲۳)، اختلال در تشکیل اندام‌های تولیدمثلی (۲۴) افزایش رشد رویشی و اختلال در تولید گل‌های نابالغ (۲۵) می‌شود.

در آمریکا به‌منظور مطالعه رابطه ویروس‌ها و مایکوپلازماها با عارضه اختلال سویا (SBP) و بررسی امکان انتقال عارضه، نمونه‌برداری از بوته‌های

مزارع دارای عارضه یافت شود، به دست نیامد (۵). در پژوهش صورت گرفته توسط معینی که در آن شناسایی مقدماتی تعدادی از ویروس‌های آلوده‌کننده سویا (با تأکید بر توسپوویروس‌ها) و ارتباط احتمالی آن‌ها با عارضه اختلال صورت گرفت، آلودگی ویروسی تعدادی از نمونه‌های دارای عارضه اختلال مشاهده شد اما مایه‌زنی مکانیکی گیاهان دارای عارضه اختلال بر روی میزبان‌های به‌کار رفته علایمی ایجاد ننمود (۲۶).

تشخیص داده شدند اگرچه در بررسی‌های گلخانه، عامل شناسایی شده نتوانست علائم عارضه را ایجاد نماید (۱۳). در ایران افشاری آزاد نقش ریزجانداران خاک‌زی را در بروز عارضه اختلال در غلاف‌بندی سویا بررسی نمود که نتایج نشان‌دهنده وجود قارچ‌های *Macrophomina phaseolina*، *Rhizoctonia solani* و *Fusarium solani* هم در مزارع بدون عارضه و هم در مزارع دارای عارضه بود و هیچ‌گونه قارچ بیماری‌زای خاک‌زی که تنها در

جدول ۶- نتایج تأثیر ارقام و مایه‌زنی ویروس بر شاخص‌های رشدی سویا در مقایسه با تیمار شاهد در زمین اصلی در سال اول.

**Table 6. Effect of inoculation, net and cultivars on soybean growth indices in the first year.**

ساری Sari	سامان Saman	کتول Katol	امیر Amir	ویلیامز Williams	رقم (Cultivar) تیمار (Treatment)	شاخص رشدی Growth indices
52.1±1.5 <sup>Db</sup>	79.5±5.6 <sup>Bb</sup>	94.4±5.7 <sup>Aab</sup>	61.1±2.7 <sup>Cb</sup>	95.7±1.7 <sup>Ab</sup>	مایه‌زنی + توری inoculation+net	ارتفاع بوته Plant length
50.3±2.9 <sup>Db</sup>	76.5±4.8 <sup>Bb</sup>	84.8±6.8 <sup>Ab</sup>	60.4±3.4 <sup>Cb</sup>	92.7±2.7 <sup>Ab</sup>	مایه‌زنی + بدون توری inoculation+ no net	
64±5.6 <sup>Ca</sup>	92.7±8.3 <sup>Ba</sup>	100.3±5.03 <sup>ABa</sup>	72.3±4.9 <sup>Ca</sup>	109.3±4.9 <sup>Aa</sup>	بدون مایه‌زنی + توری no inoculation+ net	
59.8±4.4 <sup>Ca</sup>	85.2±6.2 <sup>Bab</sup>	99.8±3.5 <sup>Aa</sup>	68.3±3.8 <sup>Ca</sup>	96.4±6.5 <sup>Ab</sup>	بدون مایه‌زنی + بدون توری no inoculation+ no net	
10.1±0.5 <sup>Cb</sup>	14.4±0.7 <sup>ABab</sup>	15±0.6 <sup>Aa</sup>	13.3±0.3 <sup>Bb</sup>	13.6±1.5 <sup>ABab</sup>	مایه‌زنی + توری inoculation+net	تعداد گره Number of node
9.7±0.3 <sup>Bb</sup>	13.3±1.3 <sup>Ab</sup>	13.8±0.7 <sup>Ab</sup>	12.2±0.8 <sup>Ab</sup>	12.2±0.7 <sup>Ab</sup>	مایه‌زنی + بدون توری inoculation+ no net	
11.2±0.5 <sup>Ba</sup>	15.7±0.6 <sup>Aa</sup>	16.2±0.7 <sup>Aa</sup>	15.2±1.3 <sup>Aa</sup>	15.9±0.8 <sup>Aa</sup>	بدون مایه‌زنی + توری no inoculation+ net	
11±0.3 <sup>Ba</sup>	14.7±0.7 <sup>Ab</sup>	15.2±0.5 <sup>Aa</sup>	13.9±0.8 <sup>Ab</sup>	14.3±1.7 <sup>Ab</sup>	بدون مایه‌زنی + بدون توری no inoculation+ no net	
44.4±4.2 <sup>ABb</sup>	43±5.5 <sup>ABb</sup>	30.4±4.2 <sup>Bb</sup>	51.1±3.7 <sup>Ab</sup>	44.4±2 <sup>ABb</sup>	مایه‌زنی + توری inoculation+net	غلاف‌های سالم Normal pod
30.9±2.9 <sup>BCc</sup>	33±4.4 <sup>Bb</sup>	25.3±3 <sup>Cb</sup>	44.7±2.5 <sup>Ac</sup>	39.4±2.8 <sup>Ab</sup>	مایه‌زنی + بدون توری inoculation+ no net	
53±2.6 <sup>BCa</sup>	59.3±5.2 <sup>ABa</sup>	45±5.7 <sup>Ca</sup>	63.1±4 <sup>Aa</sup>	52.3±3.2 <sup>BCa</sup>	بدون مایه‌زنی + توری no inoculation+ net	
42.8±1.8 <sup>ABb</sup>	39.1±5.2 <sup>BCb</sup>	28.4±1.3 <sup>Cb</sup>	50.9±1.5 <sup>Ab</sup>	44.1±2.5 <sup>ABb</sup>	بدون مایه‌زنی + بدون توری no inoculation+ no net	

ادامه جدول ۶-

Continue Table 6.

ساری Sari	سامان Saman	کتول Katol	امیر Amir	ویلیامز Williams	رقم (Cultivar) تیمار (Treatment)	شاخص رشدی Growth indices
6±1.4 <sup>ABb</sup>	3.7±1.7 <sup>BCb</sup>	6.1±0.8 <sup>ABb</sup>	9±2.6 <sup>Aab</sup>	2.3±0.9 <sup>Cb</sup>	مایه‌زنی + توری inoculation+net	
14.9±2.3 <sup>Aa</sup>	19.6±4 <sup>Aa</sup>	15.2±5.3 <sup>Aa</sup>	14.9±2.4 <sup>Aa</sup>	5.9±1.5 <sup>Ba</sup>	مایه‌زنی + بدون توری inoculation+ no net	غلاف‌های دارای اختلال
5.2±1.7 <sup>ABb</sup>	3.2±0.8 <sup>BCb</sup>	5.1±1.1 <sup>ABb</sup>	6.9±1.6 <sup>Ab</sup>	1.8±1.3 <sup>Cb</sup>	بدون مایه‌زنی + توری no inoculation+ net	Disorder pod
9±2.6 <sup>Bb</sup>	17.4±3.3 <sup>Aa</sup>	13.8±2.4 <sup>ABa</sup>	14.5±4.2 <sup>ABa</sup>	3.2±2 <sup>Cab</sup>	بدون مایه‌زنی + بدون توری no inoculation+ no net	
185.2±7.1 <sup>Bb</sup>	229.8±22.1 <sup>Abc</sup>	231.1±25.4 <sup>Ab</sup>	225.9±15.9 <sup>Ac</sup>	216.7±12 <sup>ABb</sup>	مایه‌زنی + توری inoculation+net	
117±4.3 <sup>Cc</sup>	192.9±39.4 <sup>ABc</sup>	207.1±28.9 <sup>Ab</sup>	212.2±16.9 <sup>Ac</sup>	145±34.1 <sup>BCc</sup>	مایه‌زنی + بدون توری inoculation+ no net	وزن تر Fresh weight
263.4±28.3 <sup>Ca</sup>	465.1±53.9 <sup>Aa</sup>	300.9±20.9 <sup>Ca</sup>	369±13.7 <sup>Ba</sup>	280±27.1 <sup>Ca</sup>	بدون مایه‌زنی + توری no inoculation+ net	
260.9±40.4 <sup>ABa</sup>	297.7±39.6 <sup>Ab</sup>	232.1±35.5 <sup>Bb</sup>	266±14.6 <sup>ABb</sup>	244±25.7 <sup>ABab</sup>	بدون مایه‌زنی + بدون توری no inoculation+ no net	
86.5±12.59 <sup>Cb</sup>	111.4±13.6 <sup>BCb</sup>	109±14.6 <sup>BCab</sup>	132.1±21.1 <sup>ABb</sup>	140.6±12.6 <sup>Ab</sup>	مایه‌زنی + توری inoculation+net	
55.9±11.7 <sup>Cc</sup>	81.8±21.3 <sup>Bc</sup>	90.1±4.8 <sup>Bb</sup>	126.6±15 <sup>Ab</sup>	96.4±9.4 <sup>Bc</sup>	مایه‌زنی + بدون توری inoculation+ no net	وزن خشک Dry weight
120.4±12.7 <sup>Ca</sup>	163.3±16.4 <sup>ABCa</sup>	126.1±12.5 <sup>BCa</sup>	221.3±60.2 <sup>Aa</sup>	183±25.2 <sup>ABa</sup>	بدون مایه‌زنی + توری no inoculation+ net	
115±19 <sup>Ba</sup>	116.9±8.5 <sup>Bb</sup>	116.5±13.8 <sup>Ba</sup>	146.1±11.7 <sup>Ab</sup>	153.3±20.7 <sup>Aab</sup>	بدون مایه‌زنی + بدون توری no inoculation+ no net	
324.3±26.1 <sup>Ab</sup>	352±24.5 <sup>Aa</sup>	270±15.4 <sup>Bb</sup>	201.3±11.5 <sup>Cbc</sup>	178±13.1 <sup>Cb</sup>	مایه‌زنی + توری inoculation+net	
200.7±12 <sup>Bc</sup>	277.3±26.6 <sup>Ab</sup>	267.3±19.9 <sup>Ab</sup>	189.3±16.2 <sup>Bc</sup>	170.3±10.5 <sup>Bb</sup>	مایه‌زنی + بدون توری inoculation+ no net	عملکرد Yield
425.3±13.1 <sup>Aa</sup>	376±25.1 <sup>Ba</sup>	322.7±13.3 <sup>Ca</sup>	254.3±20.03 <sup>Da</sup>	221.7±14.6 <sup>Ea</sup>	بدون مایه‌زنی + توری no inoculation+ net	
339.3±16.1 <sup>Ab</sup>	359±27.6 <sup>Aa</sup>	293±14.7 <sup>Bab</sup>	226.3±14.1 <sup>Cab</sup>	208.7±23.4 <sup>Ca</sup>	بدون مایه‌زنی + بدون توری no inoculation+ no net	

حروف بزرگ مقایسه به صورت افقی و بین ارقام و حروف کوچک مقایسه به صورت عمودی و بین تیمارها است.

Capitalize letters are compared horizontally between cultivars, and small letters are compared vertically between treatment Means with the same letters are not significantly different by the least significant difference test

جدول ۷- نتایج تأثیر ارقام و مایه‌زنی ویروس بر شاخص‌های رشدی سویا در مقایسه با تیمار شاهد در زمین اصلی در سال دوم.

**Table 7. Effect of inoculation, net and cultivars on soybean growth indices in the second year.**

ساری Sari	سامان Saman	کتول Katol	امیر Amir	ویلیامز Williams	رقم (Cultivar) تیمار (Treatment)	شاخص رشدی Growth indices
87.4±3.7 <sup>Dab</sup>	134.1±3.8 <sup>Ba</sup>	139.4±3.6 <sup>Bb</sup>	105.9±7.9 <sup>Cb</sup>	152.5±2.3 <sup>Aa</sup>	مایه‌زنی + توری inoculation+net	ارتفاع بوته Plant length
85.1±7.3 <sup>Db</sup>	129.9±7.9 <sup>Ba</sup>	136.7±4.4 <sup>Bb</sup>	103.3±8.6 <sup>Cb</sup>	151.1±9.3 <sup>Aa</sup>	مایه‌زنی + بدون توری inoculation+ no net	
97.8±6.6 <sup>Da</sup>	136.1±5.5 <sup>Ba</sup>	149.4±4.2 <sup>Aa</sup>	123.6±6.5 <sup>Ca</sup>	156.7±6 <sup>Aa</sup>	بدون مایه‌زنی + توری no inoculation+ net	
91.3±5.5 <sup>Dab</sup>	135±1.7 <sup>Ba</sup>	141.3±4.5 <sup>Bb</sup>	116.1±6.7 <sup>Cab</sup>	153.7±3.5 <sup>Aa</sup>	بدون مایه‌زنی + بدون توری no inoculation+ no net	
15±0.6 <sup>Bbc</sup>	18.5±1 <sup>Abc</sup>	17.6±1.02 <sup>ABbc</sup>	16.8±1.3 <sup>ABbc</sup>	19.4±2 <sup>Ac</sup>	مایه‌زنی + توری inoculation+net	تعداد گره Number of node
14.4±0.5 <sup>Dc</sup>	17.2±0.7 <sup>Bc</sup>	17.1±0.7 <sup>Bc</sup>	15.7±0.3 <sup>Cc</sup>	18.4±0.7 <sup>Ac</sup>	مایه‌زنی + بدون توری inoculation+ no net	
17.4±0.8 <sup>Da</sup>	20.5±1.4 <sup>BCa</sup>	21.3±0.9 <sup>Ba</sup>	19±1.3 <sup>CDa</sup>	24.5±0.8 <sup>Aa</sup>	بدون مایه‌زنی + توری no inoculation+ net	
15.8±0.7 <sup>Db</sup>	19.9±0.5 <sup>Bab</sup>	18.9±0.2 <sup>BCb</sup>	18.3±0.3 <sup>Cab</sup>	21.8±0.8 <sup>Ab</sup>	بدون مایه‌زنی + بدون توری no inoculation+ no net	
76.7±12 <sup>Aa</sup>	87.8±13.8 <sup>Ab</sup>	83.3±14.9 <sup>Aab</sup>	88.9±21.1 <sup>Aa</sup>	98.9±15.7 <sup>Aa</sup>	مایه‌زنی + توری inoculation+net	غلایف‌های سالم Normal pod
42.3±10.1 <sup>BCb</sup>	58.9±8 <sup>ABc</sup>	72.2±15.1 <sup>Ab</sup>	40.5±5.8 <sup>Cb</sup>	70±5.9 <sup>Ab</sup>	مایه‌زنی + بدون توری inoculation+ no net	
78.9±16.8 <sup>Ca</sup>	133.5±19.9 <sup>Aa</sup>	110±15.9 <sup>ABCa</sup>	97.8±12 <sup>BCa</sup>	121.7±19.3 <sup>ABa</sup>	بدون مایه‌زنی + توری no inoculation+ net	
45.6±12.7 <sup>Bb</sup>	71.1±14.7 <sup>Abc</sup>	81.8±14.3 <sup>Aab</sup>	73.3±6.8 <sup>Aa</sup>	73.3±9.1 <sup>Ab</sup>	بدون مایه‌زنی + بدون توری no inoculation+ no net	
7.8±3.4 <sup>BCb</sup>	17.8±8.4 <sup>Ab</sup>	15.2±5 <sup>ABa</sup>	11.1±4.7 <sup>ABbc</sup>	0±0 <sup>Cb</sup>	مایه‌زنی + توری inoculation+net	غلایف‌های دارای اختلال Disorder pod
32.8±16.2 <sup>Aa</sup>	38.9±5.1 <sup>Aa</sup>	21.1±5.1 <sup>ABa</sup>	29.4±12.1 <sup>Aa</sup>	8.9±5.1 <sup>Ba</sup>	مایه‌زنی + بدون توری inoculation+ no net	
5.6±4.8 <sup>Ab</sup>	6.1±4.7 <sup>Ac</sup>	3.3±3 <sup>Ab</sup>	5.5±2.3 <sup>Ac</sup>	0±0 <sup>Ab</sup>	بدون مایه‌زنی + توری no inoculation+ net	
20±12 <sup>Aab</sup>	31.1±5.1 <sup>Aab</sup>	17.2±6.7 <sup>Aa</sup>	24.4±10.7 <sup>Aab</sup>	0±0 <sup>Bb</sup>	بدون مایه‌زنی + بدون توری no inoculation+ no net	



ادامه جدول ۷-۷

Continue Table 7.

ساری Sari	سامان Saman	کتول Katool	امیر Amir	ویلیامز Williams	رقم (Cultivar) تیمار (Treatment)	شاخص رشدی Growth indices
441.3±39.1 <sup>Cb</sup>	881.7±41.4 <sup>Ab</sup>	682±26.2 <sup>Bb</sup>	671.7±49.2 <sup>Bc</sup>	281.3±20.5 <sup>Dc</sup>	مایه‌زنی + توری inoculation+net	وزن تر Fresh weight
436.3±45.1 <sup>Bb</sup>	682.3±65.1 <sup>Ac</sup>	470.3±53.8 <sup>Bc</sup>	651.6±34.9 <sup>Ac</sup>	203.7±14 <sup>Cd</sup>	مایه‌زنی + بدون توری inoculation+ no net	
572.3±73.6 <sup>Ca</sup>	1208.7±89.2 <sup>Aa</sup>	1047.7±82.8 <sup>Ba</sup>	1078.3±74.3 <sup>ABa</sup>	609.3±31.5 <sup>Ca</sup>	بدون مایه‌زنی + توری no inoculation+ net	
542.7±53.8 <sup>Bab</sup>	942.3±37.6 <sup>Ab</sup>	942.7±143.6 <sup>Aa</sup>	973.3±49.9 <sup>Ab</sup>	345.3±11.1 <sup>Cb</sup>	بدون مایه‌زنی + بدون توری no inoculation+ no net	
236.7±61.7 <sup>BCab</sup>	410.7±72.9 <sup>Ab</sup>	323.7±23.6 <sup>Bc</sup>	306±34.8 <sup>Bbc</sup>	163.3±13.9 <sup>Cc</sup>	مایه‌زنی + توری inoculation+net	وزن خشک Dry weight
182.3±31.1 <sup>BCb</sup>	323.3±47.1 <sup>Ab</sup>	268±54.4 <sup>Ac</sup>	246.7±41.6 <sup>ABc</sup>	140.7±44.7 <sup>Cc</sup>	مایه‌زنی + بدون توری inoculation+ no net	
296.3±43.7 <sup>Ca</sup>	551.3±44.1 <sup>Aa</sup>	451.3±80.2 <sup>ABa</sup>	410.3±56.2 <sup>Ba</sup>	368.7±45.2 <sup>BCa</sup>	بدون مایه‌زنی + توری no inoculation+ net	
249.3±28 <sup>Cb</sup>	418.3±68.2 <sup>Ab</sup>	413.3±58.6 <sup>Aab</sup>	349.7±64.7 <sup>ABab</sup>	288.3±35.7 <sup>Bb</sup>	بدون مایه‌زنی + بدون توری no inoculation+ no net	
615±28.6 <sup>Bc</sup>	759.3±35.3 <sup>Ac</sup>	605±28.2 <sup>Bb</sup>	519.3±27.8 <sup>Cb</sup>	338.7±22.4 <sup>Dc</sup>	مایه‌زنی + توری inoculation+net	عملکرد Yield
552.3±30.8 <sup>Bc</sup>	751±36.2 <sup>Ac</sup>	488±48.2 <sup>Cb</sup>	335±15 <sup>Dc</sup>	293.7±30.1 <sup>Dc</sup>	مایه‌زنی + بدون توری inoculation+ no net	
1267.7±60.7 <sup>Ba</sup>	1514±30.3 <sup>Aa</sup>	653.3±48.2 <sup>Ea</sup>	913.3±42.8 <sup>Ca</sup>	758±63.2 <sup>Da</sup>	بدون مایه‌زنی + توری no inoculation+ net	
1044.7±63.1 <sup>Bb</sup>	1244.3±41.5 <sup>Ab</sup>	628±24.6 <sup>Ca</sup>	537.3±73.3 <sup>Cb</sup>	559.3±23.2 <sup>Cb</sup>	بدون مایه‌زنی + بدون توری no inoculation+ no net	

حروف بزرگ مقایسه به صورت افقی و بین ارقام و حروف کوچک مقایسه به صورت عمودی و بین تیمارها است

میانگین‌ها با حروف مشترک براساس آزمون LSD از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با هم ندارند

Capitalize letters are compared horizontally between cultivars, and small letters are compared vertically between treatment Means with the same letters are not significantly different by the least significant difference test

### نتیجه‌گیری کلی

بیماری‌های گیاهی عامل ایجاد خسارت اقتصادی فراوان در محصولات کشاورزی در سرتاسر جهان بوده و بنابراین شناسایی دقیق بیمارگرها به عنوان ابزاری جهت مدیریت بیماری‌ها الزامی است. در این پژوهش حضور ویروس‌های لکه حلقوی توتون، لکه حلقوی گوجه‌فرنگی و موزاییک آرابیس در سویاکاری‌های استان گلستان مورد ارزیابی قرار گرفت

و فراوانی حضور این ویروس‌ها در بوته‌های دارای عارضه اختلال و بوته‌های فاقد عارضه بررسی شد. براساس نتایج، ویروس‌های ArMV، TRSV و ToRSV هم در بوته‌های دارای عارضه اختلال و هم در بوته‌های فاقد عارضه ردیابی گردید و تجزیه آماری تفاوت معنی‌داری در میزان فراوانی و ارتباط سه ویروس مورد بررسی در بوته‌های دارای عارضه اختلال و بوته‌های فاقد عارضه نشان نداد هم‌چنان که

مایه‌زنی شده مشاهده نگردید. به نظر می‌رسد ویروس‌ها در زمان همراهی با عارضه، به دلیل تنشی که به گیاه سویا وارد می‌آوردند موجب تشدید عارضه می‌گردند هم‌چنان که براساس ردیابی ویروس‌ها در مناطق مختلف استان گلستان نیز، بوته‌های دارای عارضه اختلال، آلودگی ویروسی بیش‌تری نسبت به بوته‌های فاقد عارضه داشتند. براساس تیمارهای این پژوهش، آفات مکنده دارای نقش مؤثری در بروز عارضه اختلال بودند و در تیمارهایی با عدم کنترل آفات مکنده، اختلال در غلاف‌بندی به طور معنی‌داری بیش‌تر بود که این امر می‌تواند به دلیل تغذیه مستقیم آفات از گیاهان و یا انتقال سایر عوامل بیماریزا مانند فایتوپلاسماها باشد.

براساس نتایج، درصد آلودگی به ویروس‌ها قبل از بروز عارضه و بر حسب علائم بیماری‌های ویروسی در بیش‌تر موارد بالاتر از میزان حضور ویروس‌ها در بوته‌های دارای علائم عارضه اختلال بود. براساس نتایج گلخانه، علائم ایجادشده در بوته‌های مایه‌زنی شده با ویروس‌ها به صورت ایجاد لکه‌های نکروتیک، کوتولگی و گاهی نکروز سیستمیک قابل مشاهده بود اما علائم عارضه اختلال در بوته‌های مایه‌زنی‌شده مشاهده نگردید. در شرایط مزرعه نیز اگرچه مایه‌زنی ویروس‌ها در تیمارهای موردنظر سبب ایجاد علائمی مانند کلروز، نکروز و کوتاه شدن بوته‌های آلوده، کاهش تعداد گره‌ها و کاهش تعداد غلاف‌ها گردید ولی علائم خاص عارضه اختلال مانند ریزش شدید گل‌ها، تجمع غلاف‌ها و سبزماندن بوته‌ها در بوته‌های

#### منابع

1. FAO Agricultural Outlook. 2021. OECD Pub. <https://doi.org/10.1787/19428846-en>.
2. Faraji, A. and Raeesi, S. 2015. Soybean podding disorder. Agri Res, Edu and Ext Org (AREEO). 19p.
3. Cheraghali, A. 1990. Podding disorder of soybean. Final report of the research project. Agri. Res, Edu. Ext. Org. (AREEO). 54p.
4. Rahimian, H., Hamdolazadeh, A. and Montazeri, M. 1995. Study of implication of prokaryote, virus and viroid organisms in soybean podding disorder. The 12<sup>th</sup> Iranian Plant Pathology Cong.
5. Afshari Azad, H. 2003. Investigation the role of soil microorganisms in the incidence of soybean pod disorder. Final report of the research project. Agri. Res. Edu. Ext. Org. (AREEO). 25p.
6. Golnaraghi, A.R., Shahrane, N., Pourrahim, R., Farzadfar, S. and Ghasemi, A. 2004. Occurrence and relative incidence of viruses infecting soybeans in Iran. Plant DIS. 88: 1069-1074.
7. Shameli, S., Nasrollahnejad, S. and Hashemi, M. 2012. Infection status of soybean field to *Tobacco Ring Spot Virus* (TRSV) in Golestan province. J. Plant Prod. 19: 3. 27-38.
8. Almeida, A.M.R., Bergamin Filho, A. and Amorim, L. 1994. Disease progress of soybean bud blight and spatial pattern of diseased plants. J. Plant Dis. Prot. 101: 386-392.
9. Costa, A.S., Miyasaka, S. and d'Andrea Pinto, A.J. 1955. Queima dos brotos da soja, uma moléstia causada pelo vírus da necrose branca do fumo ou couve. Bragantia. 14: 7-10.
10. Rabedeaux, P.F., Gaska, J.M., Kurtzweil, N.C. and Grau, C.R. 2005. Seasonal progression and agronomic impact of *Tobacco Streak Virus* on soybean in Wisconsin. Plant DIS. 89: 391-396.
11. Derrick, K.S. 1984. Occurrence of a leafhopper-transmitted disease of soybeans in Louisiana. Plant DIS. 68: 4. 343-344.
12. Hobbs, H.A., Hill, C.B., Grau, C.R., Koval, N.C., Wang, Y., Pedersen, W.L., Domier, L.L. and Hartman, G.L. 2006. Green stem disorder of soybean. Plant DIS. 90: 4. 513-518.

13. Sharman, M. 2016. Phytoplasma and virus problems in soybean and mungbean crops. Insect Pest Management for Australia's Northern Region. <https://thebeatsheet.com.au>.
14. Bashir, A., Ahmad, Z. and Murata, N. 2000. Seed-borne viruses: detection, identification and control. Agha Jee printer. Pakistan. 156p.
15. Nasrollahnejad, S. and Shameli, S. 2015. Serological detection and host range of *Tobacco Streak Ilarvirus* in Golestan province. J. Plant Prod. 22: 59-71.
16. Clark, M.F. and Adams, S.A.N. 1977. Characteristics of micro plate's method of enzyme-linked-immunosorbent assay for detection of plant viruses. J. Gen. Virol. 34: 475-483.
17. Wei, T. and Clover, G. 2008. Use of primers with 5' non-complementary sequences in RT-PCR for the detection of nepovirus subgroups A and B. J. Virol Methods. 153: 16-21.
18. Shameli, S., Nasrollahnejad, S. and Hashemi, M. 2012. Infection status of soybean field to *Tobacco Ring Spot Virus* (TRSV) in Golestan province. J. Plant Prod. 19: 3. 27-38.
19. Shameli, S., Rakhshandehroo, F., Safarnejad, M.R. and Ramezani, S.S. 2019. Effect of *Tobacco Streak Virus* on podding of different soybean cultivars under greenhouse conditions. Appl. Entomol. Phytopathol. 86: 2. 133-145.
20. Miransari, M. 2015. Abiotic and biotic stresses in soybean production: soybean production. Academic press.
21. Jadhav Pravin, V., Mane, S.S., Nandanwar, R.S., Kale, P.B., Dudhare, M.S. and Moharil, M.P. 2015. Floral bud distortion in soybean and incidence in Central India. Egypt. J. Biol. 15: 59-65.
22. Subekti, N.A. 2008. The effects of disease on plant reproduction as basis for breeding for disease resistance. PEI PFI XIX South Sulawesi. 5: 167-80.
23. Marr, D.L. and Marshall, M.L. 2006. The role of fungal pathogens in flower size and seed mass variation in three species of Hydrophyllum (Hydrophyllaceae). Am. J. Bot. 93: 3. 389-98.
24. Pracros, P., Renaudin, J., Eveillard, S., Mouras, A. and Hernould, M. 2006. Tomato flower abnormalities induced by stolbur phytoplasma infection are associated with changes of expression of floral development genes. Mol. Plant Microbe Inter. 19: 1. 62-8.
25. Singh, A.K. and Bhatt, B.P. 2013. Occurrence of phytoplasma phyllody and witches' broom disease of faba bean in Bihar. J. Environ. Biol. 34: 5. 837.
26. Moini, A.A. 2003. Identification of some pathogenic pathogens viruses of soybeans and their possible relation with podding disorder with emphasis on Tospoviruses. Final report of the research project. Agri. Res. Edu. Ext. Org. (AREEO). 31p.

