فصلنامه گیاه‌پزشکی
(دانشگاه آزاد اسلامی شیراز)
جلد ۶، شماره ۴، سال ۱۳۹۳ (۳۶۳-۳۵۳)

ارزیابی فعالیت ضد ویروسی عصاره‌های گیاهی در برابر ویروس موزاییک توتون

ساسان قاسمی[1*]، سعید تابعین[2]

۱. گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران
۲. مرکز تحقیقات ویروس‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

چکیده

بیماری‌های ویروسی به ویژه در سال‌های اخیر از اهمیت به سزایی در کاهش عملکرد محصولات کشاورزی برخوردار شده‌اند. از آنجایی که ترکیبات دارای اثر مستقیم بر پیکره‌های ویروس در دسترس نیستند در اغلب موارد راهکارهای مدیریتی بیماری‌های ویروسی، کنترل ناقلین و یا تولید گیاهان تراریخت را شامل می‌شوند. در همین راستا بررسی عصاره گیاهان عالی به منظور شناسایی ترکیبات ضدویروسی مورد توجه بوده است. در این مطالعه، اثر ضد ویروسی عصاره متانولی گل‌جعفری، مریم‌گلی و لاله‌عباسی مورد بررسی قرار گرفت. گیاهان جمع‌آوری شده در شرایط آزمایشگاه خشک شده، عصاره‌گیری از کل اندام بوته‌ها با استفاده از حلال متانول صورت پذیرفت. اثرگذاری عصاره‌های به دست آمده بر آلودگی ویروس موزاییک توتون در شرایط گلخانه و بر روی میزبان لکه موضعی *Nicotiana glutinosa* مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور خالص‌سازی ویروس انجام پذیرفته، از غلظت ۲ mg/ml آموده ویروس برای مایه‌زنی استفاده شد به نحوی که، عصاره‌های تهیه شده در سه زمان: دو ساعت قبل از مایه‌زنی ویروس، همزمان و دو ساعت پس از مایه‌زنی ویروس بر روی بوته‌ها اسپری شد. پس از گذشت ۳۵ ساعت از زمان مایه‌زنی، تعداد لکه‌های ایجاد شده در هر یک از تیمارها شمارش شد. نتایج حاصل از آنالیز آماری و جدول تجزیه واریانس داده‌ها حاکی از آن است که دو فاکتور اصلی نوع گیاه و زمان استفاده از عصاره‌ها در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار می‌باشد اما اثرات متقابل این دو فاکتور در سطح ۱ درصد از معنی‌داری برخوردار نیست. مقایسه میانگین اثر تیمار زمان نشان داد که استفاده از عصاره‌ها در دو تیمار همزمان و دو ساعت بعد از مایه‌زنی آموده ویروس بیشترین کاهش در تعداد لکه‌ها را منجر می‌شود و بین این زمان‌ها با زمان قبل از مایه‌زنی آموده

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: ssghasemi@yahoo.com
تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۵/۰۱، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۲/۰۷

ویروس اختلاف معنی‌دار وجود دارد. مقایسه میانگین اثر تیمار گونه گیاه نشان داد که عصاره متانولی مریم گلی دارای بیشترین اثر بر کاهش تعداد لکه‌های ایجاد شده توسط ویروس موزاییک توتون بر روی میزبان لکه موضعی است به طوری که با دو تیمار گل جعفری و لاله عباسی دارای اختلاف معنی‌دار بود. اثر دو تیمار گل جعفری و لاله عباسی در کاهش تعداد لکه‌های موضعی دارای اختلاف معنی‌دار نبود. این اولین گزارش از اثر ضدویروسی گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis*) علیه ویروس‌های گیاهی است.

واژه های کلیدی: عصاره گیاهی، ویروس موزاییک توتون، اثرات ضد ویروسی

مقدمه

استفاده از سموم شیمیایی مؤثرترین روش در کنترل آفات و بیماری‌های گیاهی است. با وجود مخاطرات مرتبط با کاربرد ترکیبات شیمیایی از جمله سلامتی انسان، آلودگی محیط زیست، اثرات سمی بر دیگر موجودات غیر هدف و توسعه مقاومت در بین عوامل بیماری‌زا و آفت‌ها، عقیده بر این است که این سموم همچنان به عنوان مهمترین عامل کنترل بیماری‌ها و آفت‌ها باقی خواهند ماند (Rai & Carpinella, 2006; Kagale *et al*., 2004). از همین رو برنامه‌های کنترل آفات به سمت روش‌های سازگارتر با محیط زیست و حفظ زیست‌بوم‌های کشاورزی پیش رفته‌اند و به همین دلیل در بین روش‌های مدیریت تلفیقی کنترل زیستی از اهمیت خاصی برخوردار شده است. بر همین اساس در طی سال‌های اخیر بررسی عصاره‌های مختلف گیاهی به منظور شناسایی ترکیبات کنترل‌کننده بیماری‌ها بخش عمده‌ای از تحقیقات را به خود اختصاص داده‌اند با این وجود در مورد بیماری‌های حاصل از ویروس‌ها بخش زیادی از مطالعات معطوف به کنترل ویروس‌های بیماری‌زای انسانی و حیوانی بوده است.

این موضوع به خوبی مشخص شده است که تعدادی از گیاهان عالی دربردارنده ترکیبات بازدارنده در برابر آلودگی‌های ویروسی هستند و تعدادی از این بازدارنده‌های مؤثر نیز در گیاهان جداسازی و مشخصات‌شان تعیین شده است. ترکیبات ضد ویروسی مشتق شده از گیاهان در برابر ویروس‌های گیاهی، جانوری و انسانی فعال هستند. این گروه از ترکیبات مؤثر گیاهی در گروه‌های furcoumarin، آلکالوئیدها، ترپنوئیدها، لکتین و پروتئین‌های اختصاصی گروه‌بندی می‌شوند (Vivanco, 1999).

پروتئین‌های ضدویروسی مشتق شده از گیاهان قسمت عمده اثرات ضد ویروسی گیاهان عالی را به خود اختصاص داده‌اند و به همین دلیل بیشتر مطالعات بر روی این گروه از پروتئین‌ها صورت پذیرفته است. در این گروه از پروتئین‌ها یک گروه به عنوان پروتئین‌های غیرفعال‌کننده ریبوزوزم (Ribosome inactivating protein, RIP) نامیده می‌شوند که گسترش وسیعی در گیاهان عالی دارند و امیدهایی را برای کاربردهای دارویی و کشاورزی ایجاد کرده‌اند.

در تعداد زیادی از گیاهان عالی ترکیبات ضدویروسی شناسایی شده‌اند که در این بین بر راسته *Chenopodiales* و زیررده *Centrospermae* به عنوان منبع عناصر ضدویروسی تأکید شده است (Grasso & Sheperd, 1978). از جمله گیاهان و ترکیبات شناسایی شده به عنوان عوامل ضد ویروسی می‌توان به موارد ذیل اشاره کرد: PAP (Pokeweed antiviral protein) که از گیاه *Phytolacca americana* (سرخاب کولی) جداسازی شده است، MAP که از ریشه گیاه *Mirabilis jalapa* به دست آمده است. گونه *Basella rubra* گیاه دیگری است که پروتئین-های بازدارنده ریبوزومی از بذرهای آن به دست آمده است. دیانتین از *Dianthus caryophyllus* جداسازی شده است. یک بازدارنده آلودگی ویروسی از برگ‌های *Clerodendron inerme* به دست آمده است و Momordin1، Momorcochin-s و Trichokirin از جمله پروتئین‌هایی هستند که از خانواده *Cucurbitacea* خالص‌سازی شده‌اند. از دیگر گیاهانی که دارای فاکتورهای ضد ویروسی هستند می‌توان به *Pelargonium hortorum*، *Chenopodium album* و *Capsicum frutescens* اشاره نمود (Kubo *et al*., Bolognesi *et al*., 1997; 1990; Takanami *et al*., 1990).

این ترکیبات در برابر ویروس‌های اران‌ادار مختلفی نظیر ویروس موزاییک توتون (Tobacco mosaic virus,TMV)، ویروس وای (Potato virus Y, PVY) و ایکس سیب‌زمینی (Potato virus X, PVX) و حتی ویروس‌های دی‌ان‌ادار از جمله ویروس موزاییک کلم گل (Cauliflower mosaic virus, CaMV) و ویروس موزاییک آفریقایی کاساوا (African cassava mosaic virus, ACMV) نیز از ایجاد آلودگی جلوگیری به عمل آورده‌اند. ژن‌های ترکیبات ذکر شده نظیر PAP و MAP پس از شناسایی به گیاهانی نظیر مرکبات و سیب‌زمینی منتقل شده‌اند که در نتیجه باعث بروز مقاومت به ویروس‌های تریستیزای مرکبات و طیف وسیعی از ویروس‌های آلوده‌کننده سیب‌زمینی شده‌اند، بنابراین چنین ترکیباتی می‌توانند به عنوان ذخایر مهم ژنتیکی در ایجاد گیاهان تراریخت مقاوم به ویروس‌ها مورد استفاده قرار بگیرند (Chen & White, 1991; Kubo *et al*., 1990; Lodge *et al*., 1993).

با توجه به این نکته که محل رویش گونه‌های گیاهی و تنوع ژنتیکی آنها بر ترکیب شیمیایی گیاهان اثرگذار است مطالعات غربال‌گری جهت یافتن ترکیبات جدید ضد ویروسی در مناطق مختلف جهان مورد نیاز است. در این مطالعه، غربال‌گری به منظور یافتن گونه‌های جدید گیاهی با اثرات ضد ویروسی مد نظر است.

مواد و روش‌ها

تکثیر و خالص‌سازی ویروس موزاییک توتون (Tobacco mosaic virus, TMV)

بوته‌های *Nicotiana tabacum* var. Turkish به عنوان میزبان سیستمیک TMV جهت تکثیر ویروس در شرایط گلخانه کشت شده و مایه‌زنی مکانیکی بوته‌ها انجام پذیرفت. پس از ظهور علائم موزاییک سیستمیک در بوته‌ها، خالص‌سازی ویروس موزاییک توتون با استفاده از پلی‌اتیلن گلیکول (polyethylenglycol 6000) و بر اساس روش Bateman & Chant صورت پذیرفت (Bateman & Chant, 1979). پس از این مرحله، میزان جذب آموده خالص‌شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۲۲۰ تا ۳۰۰ نانومتر با فاصله‌های دو نانومتری مورد سنجش قرار گرفت.

آزمون الیزا به روش غیرمستقیم

آزمون الیزای غیرمستقیم بر اساس روش کلارک و آدامز (۱۹۷۷) و با استفاده از آنتی‌بادی چند همسانه‌ای تولید شده بر علیه TMV انجام پذیرفت (Clark & Adams, 1977).

آماده سازی بافت گیاهی

گیاهان مورد مطالعه در این تحقیق عبارتند از: گل جعفری (*Tagetes patula*; Asteraceae)، مریم گلی (*Salvia officinalis*; Lamiaceae)، لاله عباسی (*Mirabilis jalapa*; Nyctaginaceae). بوته گیاهان مذکور پس از حذف آلودگی در دمای آزمایشگاه و دور از تابش نور مستقیم آفتاب خشک شدند. بافت‌های گیاهی به وسیله آسیاب خرد گردیده به طوری که بافت‌های آسیاب شده از الک یک مش عبور کند.

عصاره‌گیری با استفاده از حلال متانول

در این روش مقدار پنج گرم از بافت آسیاب شده به ۱۰۰ میلی لیتر متانول اضافه گردید و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۰C° روی شیکر قرار داده شد. پس از این مدت ۷۵ میلی‌لیتر از محلول را برداشته، ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل به آن اضافه گردید که حجم آن به ۱۰۰ میلی لیتر برسد، سپس هم حجم با آن هگزان اضافه گردید. این مخلوط دو ساعت روی شیکر قرارداده شد، سپس فازهای متانولی و هگزانی از یکدیگر جدا گردید، فاز متانولی جهت تبخیر متانول و استحصال عصاره در زیر هود قرار داده شد (Bahraminejad *et al*., 2008).

آزمون اثر ضدویروسی

بوته‌های گیاه *Nicotiana glutinosa* به عنوان میزبان لکه موضعی TMV در شرایط گلخانه کشت شد. غلظت ۵ درصد عصاره‌های به دست آمده، در سه حالت بر روی بوته‌ها تیمار شد. این تیمارها عبارتند از: اعمال عصاره‌ها دو ساعت قبل از مایه‌زنی آموده ویروس، اعمال عصاره‌ها

همزمان با مایه‌زنی آموده و دو ساعت بعد از مایه‌زنی آموده ویـروس. از آمـوده ویـروس خـالص شده رقت mg/ml ۲ تهیه شد و در حجم برابر با عصاره‌ها در هر تکرار مورد استفاده قرار گرفت.

نمونه‌برداری و تجزیه‌وتحلیل داده‌ها

این آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در پنج تکرار در شرایط گلخانه انجام شد. در مورد میزبان لکه موضعی پس از اعمال تیمارها بر روی تکرارهای مورد نظر، تعداد لکه‌های به وجود آمده در سطح برگ‌ها پس از یک دوره زمانی ۳۵ ساعته به عنوان معیار سنجش و مقایسه در نظر گرفته شد. در این آزمون تیمارها عبارتند از: گونه های مختلف گیاهی و زمان اثر دادن عصاره‌ها (قبل، همزمان و بعد از مایه‌زنی آموده ویروس). از طرح کاملاً تصادفی برای مشخص نمودن تفاوت بین هر یک از تیمارها از نظر اثرات ضد ویروسی استفاده شد و با استفاده از آزمون دانکن در نرم‌افزار SAS هر گونه تفاوت معنی‌دار بین میانگین تیمارها مشخص شد.

نتایج و بحث

آزمون الیزا

در آزمون الیزا با توجه به اینکه، عصاره گیاه سالم نیز مقداری جذب را نشان می‌دهد، و نیز به منظور تعیین نمونه‌های آلوده و مشخص کردن تیتر ویروس، نمونه‌ای را آلوده در نظر می‌گیریم که میزان جذب نوری آن حداقل سه برابر میانگین میزان جذب نوری گیاهان سالم در همان رقت باشد، یا به عبارتی میزان جذب آن برابر و یا بیشتر از $\overline{X}+3Sd$ باشد، که در این فرمول $\overline{X}$ میانگین جذب گیاهان سالم و Sd انحراف معیار میزان جذب در این گیاهان است.

در این آزمون تمام نمونه‌های مایه‌زنی شده واکنش مثبت را از خود به نمایش گذاشتند و سری رقت نیز بر شدت واکنش در این آزمون تأثیر چندانی بر جای نگذاشت که نشان‌دهنده غلظت بالای ویروس در بافت‌های مایه‌زنی است. بر همین اساس، مناسب بودن بافت‌های آلوده تهیه شده به منظور خالص‌سازی پیکره‌های ویروس مشخص گردید.

تعیین میزان غلظت آموده ویروس خالص شده در روش رسوب به وسیله پلی‌اتیلن گلیکول

برای تعیین غلظت و میزان خلوص آموده ویروس به دست آمده، میزان جذب رقت $\frac{1}{50}$ آموده با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر مورد ارزیابی قرار گرفت. میزان جذب آموده ویروس در طول موج‌های بین ۳۰۰-۲۲۰ نانومتر با فواصل دو نانومتری سنجیده شد. جذب نوری آموده رقیق شده ویروس خالص در ۲۶۰ نانومتر برابر با ۱/۲۷۶ به دست آمد و بر این اساس غلظت ویروس مطابق فرمول زیر محاسبه گردید.

$$C=\frac{OD}{2/7}\times dilution\ \ factor\ \Rightarrow C=\frac{1/276}{2/7}\times 50=23/62\ mg/ml$$

این نتیجه نشان می دهد که در هر میلی لیتر از آموده ویروس خالص شده اولیه، ۲۳/۶۲ میلی‌گرم از پیکره ویروس وجود دارد.

اثر ضد ویروسی عصاره متانولی گیاهان

در این مطالعه غلظت mg/ml ۲ ویروس خالص شده همراه با رقت ۵ درصد عصاره متانولی مریم گلی، گل جعفری و لاله عباسی در سه زمان مختلف مورد استفاده قرار گرفت. دو ساعت قبل از مایه‌زنی آموده ویروس، همزمان با مایه‌زنی و ۲ ساعت پس از مایه‌زنی آموده ویروس، عصاره‌ها بر روی برگ بوته‌های توتون اسپری پاشی شدند. پس از گذشت ۳۵ ساعت از زمان مایه‌زنی تعداد لکه‌های ایجاد شده در پنج تکرار هر تیمار شمارش شد (شکل ۱ تصویر یک تکرار از هر یک از تیمارها را نشان می‌دهد) که داده‌های حاصل در جدول شماره ۱ ذکر شده است.

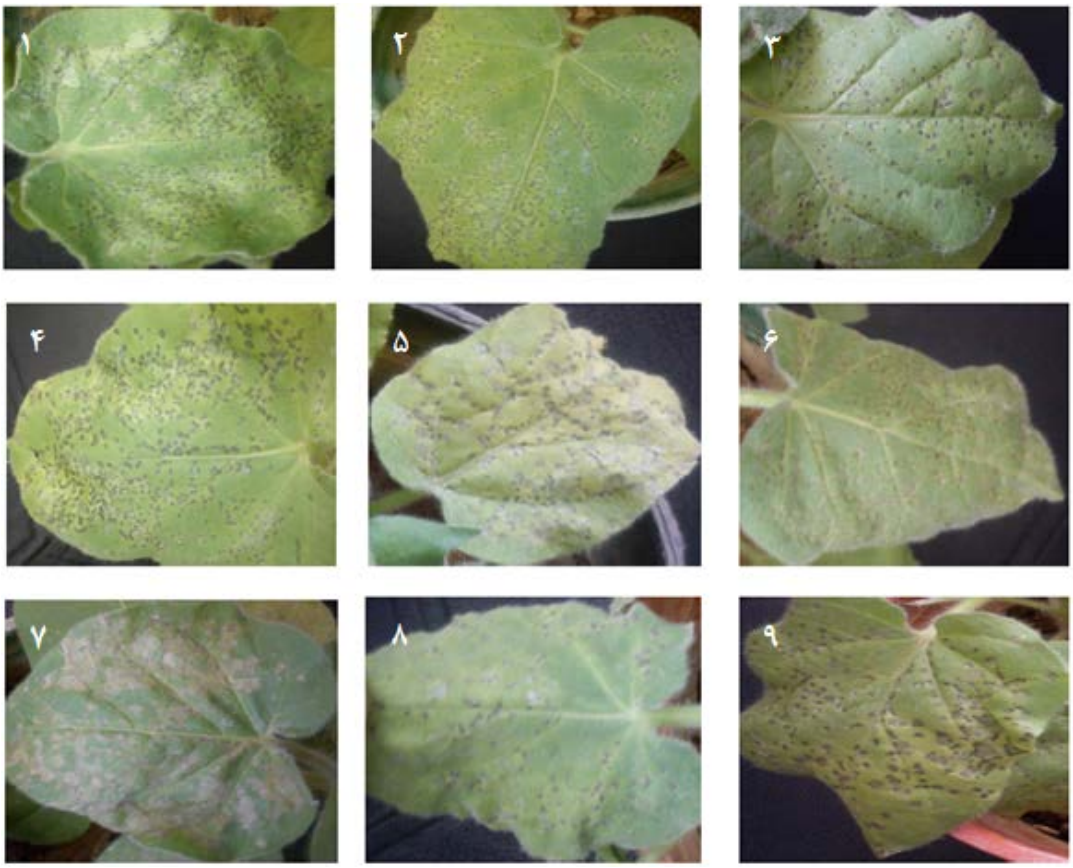
جدول۱- تعداد لکه‌های ایجاد شده در هر یک از ۵ تکرار تیمارهای موجود و میانگین تعداد لکه در هر یک از تیمارها

Table 1. Number of produced local lesions and mean of these for each treatment

Treatment	Number of local lesion					Means
	rep. 1	rep.2	rep.3	rep.4	rep.5	
T. patula (before inoculation)	132	111	371	223	112	189.8
T. patula (simultaneous)	211	168	124	195	145	168.6
T. patula (after inoculation)	111	130	78	156	141	123.2
S. officinalis (before inoculation)	173	184	135	217	153	172.4
S. officinalis (simultaneous)	65	56	68	72	85	69.2
S. officinalis (after inoculation)	39	98	42	76	135	78
M. jalapa (before inoculation)	239	165	133	290	181	201.6
M. jalapa (simultaneous)	172	157	163	223	142	171.4
M. jalapa (after inoculation)	148	197	161	134	158	159.6
METHANOL	172	167	138	178	194	169.8

نتایج حاصل از آنالیز آماری و جدول تجزیه واریانس روی داده‌های حاصل از شمارش تعداد لکه‌ها حاکی از آن است که فاکتورهای اصلی نوع گیاه و زمان استفاده از عصاره‌ها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار می‌باشد اما اثرات متقابل این دو فاکتور در سطح یک درصد از معنی‌داری برخوردار نیست (جدول ۲).

مقایسه میانگین اثر تیمار زمان نشان داد که استفاده از عصاره‌های متانولی مریم گلی، گل جعفری و لاله عباسی، همزمان و دو ساعت بعد از مایه‌زنی آموده ویروس بیشترین کاهش در تعداد لکه‌ها را منجر می‌شود و بین این زمان‌ها با زمان قبل از مایه‌زنی آموده ویروس اختلاف معنی‌دار وجود دارد (شکل ۲). میانگین تعداد لکه‌ها در تیمار استفاده از عصاره‌ها قبل از مایه‌زنی ویروس ۱۸۷/۹، در تیمار استفاده از عصاره‌ها همزمان با مایه‌زنی ویروس ۱۳۶/۴ و در تیمار استفاده از عصاره‌ها بعد از مایه‌زنی ویروس ۱۲۰/۳ لکه در هر تکرار (برگ) می‌باشد.



شکل ۱- تأثیر عصاره‌های متانولی به دست آمده بر تعداد لکه‌های ایجاد شده توسط TMV بر روی میزبان لکه موضعی *N. glutinosa*.. ۱: تیمار عصاره متانولی گل‌جعفری قبل از مایه‌زنی ویروس، ۲: تیمار عصاره متانولی گل‌جعفری همزمان با مایه‌زنی ویروس، ۳: تیمار عصاره متانولی گل‌جعفری بعد از مایه‌زنی ویروس، ۴: تیمار عصاره متانولی لاله عباسی قبل از مایه‌زنی ویروس، ۵: تیمار عصاره متانولی لاله عباسی همزمان با مایه‌زنی ویروس، ۶: تیمار عصاره متانولی لاله عباسی بعد از مایه‌زنی ویروس، ۷: تیمار عصاره متانولی مریم گلی قبل از مایه‌زنی ویروس، ۸: تیمار عصاره متانولی مریم گلی همزمان با مایه‌زنی ویروس و ۹: تیمار عصاره متانولی مریم گلی بعد از مایه‌زنی ویروس

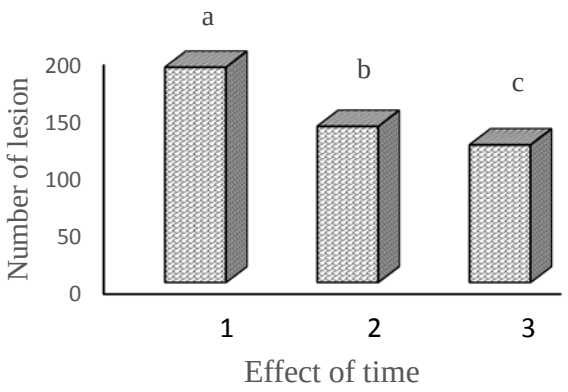
Figure 1. Effect of methanol extracts on number of local lesion produced by TMV. 1: treatment of *T. patula* methanol extract before virus inoculation, 2: treatment of *T. patula* methanol extract simultaneous with virus inoculation, 3: treatment of *T. patula* methanol extract after virus inoculation, 4: treatment of *M. jalapa* methanol extract before virus inoculation, 5: treatment of *M. jalapa* methanol extract simultaneous with virus inoculation, 6: treatment of *M. jalapa* methanol extract after virus inoculation, 7: treatment of *S. officinalis* methanol extract before virus inoculation, 8: treatment of *S. officinalis* methanol extract simultaneous with virus inoculation, 9: treatment of *S. officinalis* methanol extract after virus inoculation

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس

Table 2. Results of variance analysis

S.O.V	Mean Square
A	18736.86**
B	20615**
AB	2881.76ns
Error	183.06
C.V.	9.12

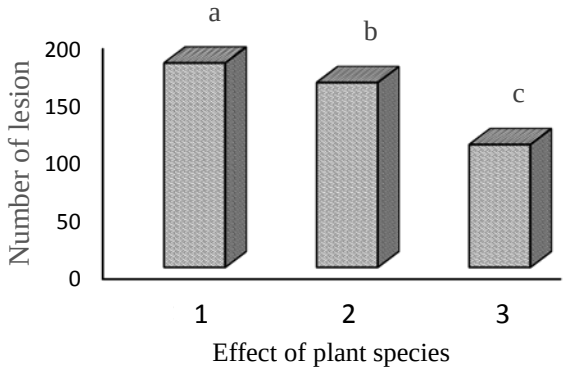
** and ns: Significant at 1% probability level and non-significant



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر تیمار زمان استفاده از عصاره‌ها بر تعداد لکه‌های ایجاد شده توسط ویروس. ۱: استفاده از عصاره‌ها قبل از مایه‌زنی ویروس، ۲: استفاده از عصاره‌ها همزمان با مایه‌زنی ویروس، ۳: استفاده از عصاره‌ها بعد از مایه‌زنی ویروس

Figure 2. Means comparison of time treatment; 1: using extracts before TMV inoculation, 2: using extracts simultaneous with TMV inoculation, 3: using extracts after TMV inoculation

مقایسه میانگین اثر تیمار گونه گیاه شامل: مریم گلی، گل جعفری و لاله عباسی نشان داد که غلظت ۵ درصد عصاره متانولی مریم گلی دارای بیشترین اثر بر کاهش تعداد لکه‌های ایجاد شده توسط TMV روی میزبان لکه موضعی *N. glutinosa* است به طوری که با دو تیمار گل جعفری و لاله عباسی دارای اختلاف معنی‌دار بود (شکل ۳). اثر دو تیمار گل جعفری و لاله عباسی در کاهش تعداد لکه‌های موضعی دارای اختلاف معنی‌دار نبود. میانگین تعداد لکه‌های ایجاد شده در تیمار عصاره متانولی مریم گلی ۱۰۶/۵، در گل جعفری ۱۶۰/۵ و در لاله عباسی ۱۷۷/۵ لکه در هر تکرار (برگ) بود.



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر تیمار نوع گیاه بر تعداد لکه‌های ایجاد شده توسط ویروس. ۱: عصاره متانولی گیاه لاله عباسی، ۲: عصاره متانولی گیاه گل جعفری، ۳: عصاره متانولی گیاه مریم گلی

Figure 3. Means comparison of plant species treatment; 1: methanol extract of *M. jalapa*, 2: methanol extract of *T. patula*, 3: methanol extract of *S. officinalis*

در این مطالعه استفاده از عصاره متانولی سه گونه گیاهی از سه تیره متفاوت شامل گل جعفری (*T. patula*)، مریم گلی (*S. officinalis*) و لاله عباسی (*M. jalapa*) مورد بررسی قرار گرفت. غلظت تهیه شده از عصاره‌ها بر علیه غلظت دو میلی‌گرم در میلی‌لیتر از ویروس موزاییک توتون خالص شده مورد استفاده قرار گرفت به نحوی که عصاره در سه تیمار زمانی قبل، همزمان و بعد از مایه‌زنی ویروس مورد استفاده قرار گرفتند. آنالیز آماری تعداد لکه‌های ایجاد شده توسط ویروس روی میزبان لکه موضعی در هر تیمار صورت پذیرفت و مشخص نمود که تیمارهای زمان و گونه گیاهی مورد استفاده در سطح یک درصد دارای تفاوت معنی‌دار هستند. استفاده از عصاره‌ها همزمان و دو ساعت پس از مایه‌زنی ویروس دارای تفاوت معنی‌دار با استفاده از عصاره‌ها دو ساعت قبل از مایه‌زنی بود. استفاده از عصاره متانولی گیاه مریم‌گلی بیشترین کاهش تعداد لکه‌ها را به دنبال داشت که با دو گونه دیگر تفاوت معنی‌دار داشت.

در مطالعات پیشین اثر ضدویروسی گونه مریم گلی (*S. officinalis*) در مورد ویروس‌های انسانی به اثبات رسیده بود. این مطالعه اولین گزارش از اثر ضد ویروسی این گونه گیاهی در برابر ویروس‌های آلوده‌کننده گیاهان را ارائه نمود. در مطالعات گذشته پروتئین جدا شده از ریشه گیاه لاله‌عباسی، به عنوان پروتئینی با خاصیت ممانعت‌کنندگی از تکثیر ویروس معرفی شده بود. در مطالعه حاضر، کاهش میزان پروتئین مذکور در عصاره حاصل از کل بافت گیاه لاله‌عباسی باعث کاهش اثر ضد ویروسی این گونه گیاهی شد.

با در نظر گرفتن نتایج حاصل از این مطالعه می‌توان انتظار داشت که گونه‌های گیاهی جدیدی به عنوان منابع ضد ویروسی شناسایی شوند. در نهایت می‌توان با شناسایی ترکیبات اثرگذار در این گونه‌ها، به دسترسی به ترکیبات زیستی ضد ویروسی با اثرات سوء کمتر امیدوار بود.

منابع

Awasthi, L. P., Singh, S. P., Verma, H. N., & Kluge, S. 2013. Further studies on the antiviral agent isolated from host palnts, pre-treated with *Boerhaavia diffusa* glycoprotein. *Virology & Mycology* 3:1-9.

Azlan, G. J., Marziah, M., Radzali, M. & Johari, R. 2003. Accumulation of Physalin in cells and tissues of *Physalis minimal L*. III WOCMAP Congress on medicinal and aromatic Plants Vol. 2: Conservation, Cultivation and sustainable use of medicinal and aromatic plants.

Bahraminejad, S., Asenntorfer, R. E., Riley, I. T., & Schultz, C. J. 2008. Analysis of the antimicrobial activity of flavonoids and saponins isolated from the shoots oats (*Avena sativa* L.). *Journal of Phytopathology* 156:1-7.

Bahraminejad, S., Abbasi, S., Maassoumi, S. M., & Tabein, S. 2012. Evaluation of inhibitory effects of extracts of plants from western Iran against *Phytophthora drechsleri*. *Australian Journal of Crop Science* 6: 255-260.

Bolognesi, A. 1997. New ribosome-inactivating proteins with polynucleotide: adenosine glycoside and antiviral activities from *Basella rubra* and *Bougainvillea spectabilis*. *Planta* 203: 422-429.

Bateman, J. G., & Chant, S. R. 1979. A modification of the polyethylene glycol technique for the purification of small quantities of tobacco mosaic virus. *Microbios* 25:33-43.

Clark, M. F., & Adams, A. N. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology* 34:475–483.

Cowan, M. M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews* 12: 564-582.

Dixon, R. A. 2001. Natural products and plant disease resistance. *Nature* 411: 843-847.

Kagale, S., Marimuthu, T., Thayumanavan, B., Nandakumar, R., & Samiyappan, R. 2004. Antimicrobial activity and Induction of systemic resistance in rice by leaf extract of *Datura metel* against *Rhizoctonia solani* and *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae. Physiological and Molecular Plant Pathology* 65: 91-100.

Lodge, J. K., Kaniewski, J. K., & Tumer, N. E. 1993. Broad-spectrum virus resistance in transgenic plants expressing pokeweed antiviral protein. *Proceeding of the National Academy of Sciences* 90: 7089-7093.

Maloy, O. C. 1993. *Plant Disease Control, Principles and Practice*. John Willey, NewYork.

Mojdehi, H. R. 2004. *Control of Plant Pathogens*. Publication Center of Islamic Azad University, Tehran, Iran (In Persian).

Montanha, J. A., Moellerke, P., Bordignon, S. A. L., Schenkel, E. P., & Roehe, P. M. 2004. Antiviral activity of Brazilian plant extracts. *Acta Farmaceutica Bonaerense* 23: 183-186.

Othman, B. A., & Shoman, S. A. 2004. Antiphytoviral activity of the *Plectranthus tenuiflorus* on some important viruses. *International Journal of Agriculture & Biology* 6:844-849.

Plant Protection Journal
(Islamic Azad University, Shiraz Branch)
Vol. 6, No. 4, 2013 (353-363)

Evaluation of antiviral effects of plant extracts against *Tobacco mosaic virus*

Sasan GHASEMI[1], Saeid TABEIN[2]
1. Department of Plant Protection, College of Agriculture, Shiraz branch Islamic Azad University, Shiraz, Iran (*Corresponding author. E-mail: ssghasemi@yahoo.com*)
2. Plant Virology Research Center, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz , Iran

Abstract

In the last decades, viral diseases cause to high losses in worldwide crop production. Since, agents with direct effects on virus particles are not available, management approaches of viral diseases includes control of vectors and/or protection of plants according to transformation. According to this, high plant extracts considered as a source antiviral agents. In this study, antiviral effect of methanol extracts of *Tagetes patula*, *Salvia officinalis* and *Mirabilis jalapa* was examined. Collected plants were dried at laboratory condition and then extraction from these samples was carried out by methanol solvent. Antiviral effect of these extracts was screened against tobacco mosaic virus on *Nicotiana glutinosa* as a local lesion host. Concentration of one twentieth of extracts was used against 2mg/ml purified TMV at three different times: two hours before, simultaneous and two hours after inoculation of virus. After 35 hours post-inoculation, lesions produced by TMV were countered at each treatment. This factorial experiment was performed based on completely randomized design with five replications for each treatment. Data were analyzed and showed two main factors: plant species and time had significant differences at 1% probability level. Means comparison of time treatment showed that use of extracts at simultaneously and after inoculation of virus had most effect on decrease of local lesions. Means comparison of plant species treatment showed that *S. officinalis* methanol extract had most antiviral effect against TMV. This is a first report of antiviral effect of *S. officinalis* against phytoviruses.

Keywords: Plant extract, *Tobacco mosaic virus*, Antiviral effects