

## شیوع بیماری ویروسی Tea Plant Necrotic Ring Blotch در باغ‌های چای مازندران

عیسی ناظریان\* و ایرج بهمنی

پژوهشکده چای، موسسه تحقیقات علوم باگبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، لاهیجان، ایران

\* [eisanazerian1144@gmail.com](mailto:eisanazerian1144@gmail.com)

### بیان مسئله

قرارگرفته ولی بیشتر جنبه‌های آن هنوز ناشناخته مانده است (Wang et al., 2016; xu et al., 2017). تصور بر این است که علت بی‌رنگ شدن برگ‌ها ممکن است در اثر عواملی همچون کمبود مواد غذایی، خسارت ناشی از آفات و بیماری‌ها، اختلافات ژنتیکی و فشارهای محیطی بوده باشد و در این‌بین آسودگی ویروسی نیز می‌تواند عوامل محتملی نیز محسوب گردد. بیماری در اثر ویروس‌ها با علائم واضح حلقه‌های نکروتیک ممکن است به قارچ‌ها و باکتری‌ها نسبت داده شوند. اغلب آسودگی‌های ویروسی سبب بروز خسارات جدی بر گونه‌های گیاهان چوبی می‌گردد (Pallas et al., 2012) متأسفانه تاکنون هیچ‌گونه مطالعه‌ای بر روی شناسایی ویروس‌های گیاه چای در ایران صورت نگرفته است. ویروس‌ها عموماً دارای نقش‌های چندجانبه‌ای بوده و ممکن است سبب ویرانی کامل تولیدات کشاورزی نظیر ویروس TMV گردد (Koch et al., 2016) و یا سبب تعییر رنگ گل‌ها نظیر ویروس شکستگی رنگ لاله (Polder et al., 2010) و نیز ممکن است به عنوان یک ابزار ارزشمند در مهندسی ژنتیک کاربرد داشته باشد. (Xia et al., 2017). از این‌رو شناسایی ویروس‌ها در گیاه چای از نظر ویروس‌شناسی و اصلاح گیاه چای مهم جلوه‌گر می‌نماید.

گیاه چای یک گیاه چوبی دائمی می‌باشد که از ۳۰۰۰ سال قبل تاکنون به عنوان نوشیدنی در چین مصرف می‌گردد. کشورهای عمدۀ تولیدکننده این گیاه، چین، هندوستان، سریلانکا، کنیا، رائین و چندین کشور دیگر می‌باشند. تولید چای در دنیا صرفه اقتصادی داشته و بعد از آب دومین نوشیدنی مورد مصرف در جهان است. تا مدت‌های زیادی هیچ‌گونه ویروس آسوده‌کننده چای گزارش نگردید و تصویر بر این بود که برگ چای به دلیل غنی بودن از آنتی‌اکسیدان کاتچین (Catechins) (دارای فعالیت ضد میکروبی علیه بسیاری از ویروس‌ها و سایر بیمارگرها می‌باشد.). Song (2018) تا سال ۲۰۱۶ میلادی بیش از هزار گونه ویروس آسوده‌کننده گیاهان زراعی و گیاهان وحشی کشف و گزارش گردید و در سال‌های اخیر متازنومیکس بر اساس next-generation sequencing به کارگیری از تکنیک (NGS) موفق به کشف ویروس‌های جدیدی شده است. رنگ‌پریدگی، بی‌رنگی برگ‌ها و آلبینو پدیدهای معمول در پاییز بوده و کولتیوارهایی با برگ‌های رنگی در بعضی نقاط جهان به طور محدود کشت می‌گردد. کولتیوارهای مذکور دارای محتوای بیشتر آمینواسیدی در برگ‌های جوان خود بوده و در مقایسه با کولتیوارهای با برگ‌های سبز دارای طعم بهتری می‌باشند هرچند سازوکار مولکولی علت اختلافات رنگی برگ‌ها به طور گسترده‌ای مورد مطالعه

### شرح کار

طی سال‌های ۱۳۹۸-۱۳۹۹ نمونه‌های برگی دارای علائم واضح کلرتیک و نکروتیک حلقوی که از باغ‌های مختلف شهرهای رامسر، کتالم و سادات شهر مورد ارزیابی مولکولی و الکترونی قرارگرفته بودند حاکی از آسودگی آن‌ها به Tea plant necrotic ring blotch ویروسی موسوم به (TPNRBV) دارد که اولین بار در سال ۲۰۱۸ از

بر روی برگ‌های بالغ بروز نموده و بر روی برگ‌های جدید و نورسته و شاخه‌ها در هیچ موقع از سال نمی‌توان علائم بیماری را مشاهده نمود.

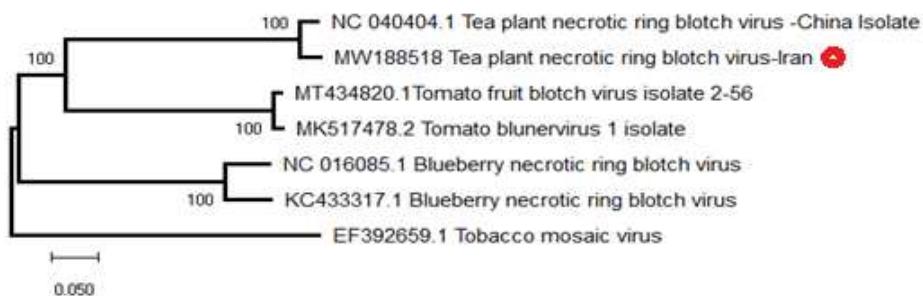
می‌باشد (تصویر ۱). نشانه‌های بیماری عموماً با شروع فصل گرما در ماههای تیر و مرداد شروع شده و تا اوایل زمستان بر روی بوته‌ها باقی خواهد ماند. علائم بیماری همچنین صرفاً



تصویر ۱: علائم نقش حلقوی بر روی برگ‌های مسن و بالغ چای (الف)، علائم موسوم به بلاج در سطح رویی برگ‌های بالغ چای (ب)، علائم بلاج در سطح زیرین برگ‌های بالغ چای (ج)

Blueberry fruit blotch virus (MK5174781)  
necrotic ring blotch virus (YP004901701.1)  
Tea plant necrotic ring blotch virus (NC040404.1) (Ciuffo et al. 2020) از خانواده Blunervirus (تصویر ۲) موجود در NCBI به جرئت می‌توان گفت که ایزوله‌ی ایرانی این ویروس به گونه‌ی جدید Tea plant necrotic ring blotch ویروس تعلق دارد.

استفاده از آغازگرهای اختصاصی ژن helicase-RNA TPNRBV1/TPNVRBV2 Plymerase متشكل از تولید باند مورد انتظار اختصاصی چهت تشخیص ویروس را حاصل نمود. یکی از توالی‌های به دست آمده در بانک ژن با شماره دسترسی MW188518 به امانت گذاشته شد. مقایسه توالی حاصل از RT-PCR صحت آلوگی TPNRBV نمونه‌های چای مناطق مختلف را به ویروس مشخص نمود. با توجه به همولوژی بالای توالی Tomato (MW188518) با توالی‌های نوکلئوتیدی



Dendrogram constructed by the neighbor-joining method showing the phylogenetic relationship between the Iranian TPNRBV (MW188518), Tomato Fruit Blotch Virus "MK517478.1" and Blueberry Necrotic Ring Blotch "YP004901701.1", based on the sequences generated using of Helicase and RNA polymerase ORF.

## نتیجه‌گیری و پیشنهاد

این اولین گزارش از ویروس TPNRBV از ایران و برای دومین بار در جهان می‌باشد. با در نظر گرفتن مشکل جدید ایجادشده در گیاه چای، تشخیص پاتوژن مذکور می‌تواند یک مرحله کلیدی در تنظیم برنامه کنترلی این ویروس را پیش پا گذارد. ویروس TPNRB عامل یک بیماری مهم در کاهش تولید اقتصادی چای به حساب آمده و از آنجایی که ویروس مذکور به عنوان یک پاتوژن اولیه در کاهش عملکرد چای مطرح می‌گردد، مطالعات آتی در جهت پایه‌ریزی تحقیقات در زمینه جنبه‌های مبهم بیولوژیکی، مقاومت، ناقلین و برنامه‌های کنترلی را می‌طلبد.

آزمون الکترون میکروسکوپی قادر به ردیابی پارتیکل‌های ویروسی درون بافت‌ها بوده و این مورد در مقایسه با ویروس دیگری از خانواده Blunervirus نظیر Tomato fruit blotch virus نداشته (Cuffo et al., 2020) درحالی که Hao et al., 2018 (Hao et al., 2018) قادر به ردیابی ذرات ویروسی در بافت‌های مورد آزمایش چای بودند. بنابراین وجود این گونه ضدوقایع‌ها در مورد ویروس‌های Blunervirus موربدیت دانشمندان می‌باشد.

## فهرست منابع

- Ciuffo M, Kinoti WM, Tiberini A, Forgia M, Tomassoli L, Constable FE, Turina, M (2020) A new *blunervirus* infects tomato crops in Italy and Australia. *Arch Virol* 165(10): 2379–2384.
- Koch, C., Eber, F. J., Azucena, C., Forste, A., Walheim, S., Schimmel, T., et al. (2016). Novel roles for well-known players: from tobacco mosaic virus pests to enzymatically active assemblies. *Beilstein J. Nanotechnol.* 7, 613–629. doi: 10.3762/bjnano.7.54
- Pallás, V., Aparicio, F., Herranz, M. C., Amari, K., Sanchez-Pina, M. A., Myrta, A., et al. (2012). Ilarviruses of *Prunus* spp.: a continued concern for fruit trees. *Phytopathology* 102, 1108–1120. doi: 10.1094/phyto-02-12-0023-rvw
- Polder, G., van der Heijden, G. W. A. M., van Doorn, J., Clevers, J. G. P. W., van der Schoor, R., and Baltissen, A. H. M. C. (2010). Detection of the tulip breaking virus (TBV) in tulips using optical sensors. *Precis. Agric.* 11, 397–412. doi: 10.1007/s11119-010-9169-2
- Song JM (2018) Anti-infective potential of catechins and their derivatives against viral hepatitis. *Clinical and Experimental Vaccine Research* 7(1): 37-42.
- Wang L, Yue C, Cao H, Zhou, Y, Zeng J, Yang Y, Wang X (2014) Biochemical and transcriptome analyses of a novel chlorophyll-deficient chlorina tea plant cultivar. *BMC plant biol* 14(1): 1-13.
- Xia, E. H., Zhang, H. B., Sheng, J., Li, K., Zhang, Q. J., Kim, C., et al. (2017). The tea tree genome provides insights into tea flavor and independent evolution of caffeine biosynthesis. *Mol. Plant* 10, 866–877. doi: 10.1016/j.molp.2017.04.002
- Xu, Y. X., Shen, C. J., Ma, J. Q., Chen, W., Mao, J., Zhou, Y. Y., et al. (2017). Quantitative succinyl-proteome profiling of *Camellia sinensis* cv. 'Anji Baicha' during periodic albinism. *Sci. Rep.* 7:1873. doi: 10.1038/s41598-017-02128-x