



Scientific article

Effect of several seaweeds extracts on *Potato Virus Y* in tobaccoMASOUMEH KHOD², SAEID NASROLLAH NEJAD^{✉1} , ZINAB ZARE³,BAYRAM MOHAMMAD QARNJIK⁴

1- PhD Student, Associate Professor, and PhD Graduate in Plant Pathology, Department of Plant Protection, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Golestan, Iran, respectively. 2- Researcher in Natural Resources Engineering, Inland Aquatic Resources Research Center (Gorgan), National Institute of Fisheries Sciences

(Received: January 2025; Accepted: March 2025)

Abstract

One of the most important tobacco viruses with a global distribution is *Potato Virus Y* (PVY). To investigate the effect of different concentrations of aqueous and ethanolic extracts of three species of red marine algae including *Digenea simplex* (Wulfen) C.Agardh, *Gracilaria corticata* (J.Agardh) J.Agardh and *Padina australis* Hauck on the severity and final concentration of *Potato Virus Y* (Accession: MF688631.1) and the chlorophyll content of tobacco plants, an experiment was conducted in a completely randomized design with four replications in the 2017-2018 growing season under greenhouse conditions in Gorgan city. The results showed that the type of algae and the type of extract had a significant effect on the severity of symptoms, the final concentration of the virus, and the amount of chlorophyll in tobacco plants. Thus, the algae *P. australis* showed the greatest effect on reducing the virus concentration (light absorption intensity equal to 1.943) and the severity of the disease symptoms (2.937). The highest chlorophyll content (21.273) was also observed in this treatment. The overall results of this study showed that the effect of the extracts on reducing the concentration of the virus in the tobacco host was influenced by the time of application, the type of algae, and the type of extract (aqueous or ethanolic).

Keywords: Bio inhibition, chlorophyll conten, disease severity, ethanolic extract, *Padina australis*



مقاله پژوهشی

تأثیر عصاره چند گونه جلبک دریایی روی ویروس وای سیب‌زمینی در گیاه توتون

معصومه خود^۱، سعید نصراله نژاد^۱ , زینب زارع^۱، بایرام محمد قرنچیک^۲

۱- دانشجوی دکتری، دانشیار، دانش‌آموخته دکتری، بیماری‌شناسی گیاهی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گلستان، ایران؛ ۲- محقق مهندسی منابع طبیعی، مرکز تحقیقات ذخایر آبزیان آب‌های داخلی (گرگان)،

مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، گرگان، ایران

(تاریخ دریافت: دی ۱۴۰۳؛ تاریخ پذیرش: اسفند ۱۴۰۳)

چکیده

یکی از مهم‌ترین ویروس‌های توتون که از پراکنش جهانی برخوردار است، ویروس وای سیب‌زمینی (*Potato Virus Y*, PVY) می‌باشد. به‌منظور بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره آبی و اتانولی سه گونه جلبک قرمز دریایی (*Digenea simplex* (Wulfen) C. Agardh و *Gracilaria corticata* (J. Agardh) J. Agardh و *Padina australis* Hauck) بر شدت و غلظت نهایی ویروس وای سیب‌زمینی (Accession: MF688631.1) و میزان کلروفیل گیاه توتون، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در سال زراعی ۱۳۹۶-۱۳۹۷ در شرایط گلخانه در شهرستان گرگان انجام شد. نتایج نشان داد که تأثیر نوع جلبک و نوع عصاره اثر معنی‌داری بر شدت علائم، غلظت نهایی ویروس و میزان کلروفیل در بوته توتون داشت. به‌طوری‌که جلبک *P. australis* بیشترین اثر را بر کاهش غلظت ویروس (شدت جذب نوری برابر ۱/۹۴۳) و شدت علائم بیماری (۲/۹۳۷) نشان داد. همچنین بیشترین مقادیر کلروفیل (۲۱/۲۷۳) نیز در این تیمار مشاهده گردید. نتایج کلی این تحقیق نشان داد میزان تأثیر عصاره‌ها، روی کاهش غلظت ویروس در میزبان توتون تحت تأثیر زمان کاربرد، نوع جلبک و نوع عصاره (آبی یا اتانولی) می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: شدت بیماری، عصاره اتانولی، مهار زیستی، میزان کلروفیل، *Padina australis*

مقدمه

توتون یکی از گیاهان مهم صنعتی است که در اقتصاد و درآمد کشورهای تولیدکننده نقش بسیار مهمی دارد. ویروس وای سیبزمینی (PVY; *Potato Virus Y*) به جنس پوتی ویروس و خانواده پوتی ویریده تعلق دارد و یکی از عوامل مهم تأثیرگذار بر کیفیت و عملکرد توتون می باشد (Hull, 2002). میزان خسارت این ویروس بسته به عوامل مختلف از جمله ژنوتیپ توتون و زمان وقوع آلودگی متفاوت است. میزان خسارت این بیماری در توتون بین ۴۰ تا ۱۰۰ درصد گزارش شده است (Reynolds, 2011). بهترین و موثرترین روش برای کاهش خسارت این ویروس روی توتون، اصلاح و تولید ارقام مقاوم یا متحمل نسبت به این بیماری است، که مستلزم صرف وقت و هزینه های زیادی است (Shazdehahmadi and Salavati, 2016). از طرفی استفاده از سموم شیمیایی برای کنترل ناقلین بیماری موجب به خطر افتادن سلامتی انسان، افزایش آلودگی محیط زیست، آثار سمی بر دیگر موجودات غیر هدف و توسعه مقاومت در بین عوامل بیماری زا و آفت ها می شود. بنابراین، در سال های اخیر استفاده از روش های سازگارتر با محیط زیست و حفظ زیست بوم ها مثل به کار بردن عصاره بعضی جلبک ها از اهمیت خاصی برخوردار شده است. تلاش در خصوص خواص ضد میکروبی عصاره های جلبک دریایی از اواسط قرن گذشته انجام شد (Zhao et al., 2016). پتانسیل بالای ضد میکروبی، ضد قارچی و ضد ویروسی ارگانسیم های دریایی از جمله جلبک ها به عنوان منبع غنی از ترکیبات فعال بیولوژیکی رویکرد تازه ای را برای دستیابی به ضد میکروب های جدید موجب شده است (Poonam, 2015). پلی ساکاریدهای جلبک دریایی، به ویژه پلی ساکاریدهای مربوط به جلبک های قهوه ای از جمله پلی سولفات ها، فعالیت های ضد ویروسی موثری دارند (Morya et al., 2012). ترکیبات طبیعی با پتانسیل آنتی اکسیدانی در جلبک ها شامل پلی فنل ها، کاروتنوئیدها، توکوفرول ها، ترپن ها، اسید اسکوربیک، الکلنوئیدها، گالیک اسید، ترکیبات استروئیدی، اسیدهای چرب، ترکیبات آروماتیک

نظیر آلکان ها و کتون های هالوژن و نهایتاً پلی سولفات های مختلف می باشد (Huang et al., 2016). ترکیباتی با فعالیت آنتی اکسیدانی، ضد ویروسی و ضد باکتریایی در جلبک های قهوه ای، قرمز و سبز شناسایی شده است (Cox et al., 2010). آلژینات، یک پلی ساکارید فراوان از جلبک های قهوه ای است، که توانسته ویروس ایکس سیبزمینی (PVX) را در غلظت ۱۰ میلی گرم در میلی لیتر به میزان ۹۵ درصد مهار کند (Pardee et al., 2004). همچنین ناگورسکایا و همکاران (Nagorskaia et al., 2008) دریافتند که کاپا/بتا کاراژینان از جلبک قرمز دریایی *Tichocarpus crinitus* (S.G.Gmelin) Ruprecht می تواند غلظت ویروس یا تکثیر TMV را در برگ های توتون و تنباکو رقم زانتی کاهش دهد. پاردی و همکاران (Pardee et al., 2004) آثار ضد ویروسی عصاره اتانولی ۳۰ گونه جلبک دریایی را در برابر ویروس ایکس سیبزمینی مورد آزمایش قرار دادند که از این آزمایش پنج گونه از شاخه Heterokontophyta شامل *Fucus gardneri* Silva, *Alaria marginata* Postels & Ruprecht, *Fragilaria oceanica* Cleve, *Codium fragile* (Suringar) Hariot و *Egregia menziessi* (Turner) Areschoug با غلظت ۱۰ میلی گرم در میلی لیتر نرخ بازدارندگی بیش از ۸۰ درصد را نشان دادند. هدی و وزیری (Waziri, 2015) اثر بازدارندگی چندین گونه جلبک دریایی را روی ویروس های توتون گزارش کردند. طبق بررسی پونام (Poonam, 2015) عصاره الکلی جلبک *Caulerpa taxifolia* (M.Vahl) C.Agardh روی ویروس نکروز توتون دارای اثر مهارکنندگی بود. با توجه به اهمیت این بیماری در ایران به خصوص در استان گلستان و با وجود مخاطرات مرتبط با کاربرد ترکیبات شیمیایی، این پژوهش در جهت یافتن راه مؤثر برای کنترل بیماری مذکور بسیار ضروری به نظر رسید.

روش بررسی

تکثیر ویروس وای سیبزمینی (PVY)

گیاهچه های توتون رقم وایت بارلی (White Burley) در مرحله دوبرگی، از مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش تهیه و

۲۵۰ میلی‌لیتری منتقل و سپس به‌طور جداگانه ۲۰۰ میلی‌لیتر اتانول (برای تهیه عصاره الکلی) و ۲۰۰ میلی‌لیتر آب (برای تهیه عصاره آبی) به آن‌ها اضافه گردید و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۰ درجه سلسیوس روی شیکر قرار داده شد. هر ۱۶ ساعت محتویات ارلن به مدت ۲۵ دقیقه به هم زده شده و در پایان محتویات ارلن به وسیله کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف و مایع صاف شده در دمای محیط قرار گرفت. تکرار عملیات فوق با تفاله باقیمانده و همان مقدار آب و اتانول ۷۰ درصد استفاده شده در مرحله قبل، اما این بار به مدت ۱۲ ساعت انجام شد. در پایان به منظور جداسازی حلال آلی از عصاره‌ها، عملیات تبخیر اتانول و استحصال عصاره در زیر هود انجام گرفت. سپس تا زمان استفاده در ظروف تیره‌رنگ و در دمای چهار درجه سلسیوس در یخچال نگهداری شد (Obied *et al.*, 2005).

آزمون اثر ضد ویروسی عصاره‌ها

پس از کشت بوته‌های گیاه توتون رقم وایت بارلی به‌عنوان میزبان ویروس وای سیب‌زمینی در شرایط گلخانه، غلظت‌های صفر، ۱۰ و ۲۰ درصد عصاره‌های الکلی و آبی به‌دست‌آمده از نمونه‌ها ۲۴ ساعت قبل از مایه زنی ویروس روی بوته‌ها تیمار شد. برگ گیاهان شاهد نیز به همین ترتیب به‌جای محلول پاشی با عصاره‌ها با آب مقطر محلول پاشی گردید. از بوته‌های آلوده توتون به ویروس PVY با استفاده از بافر فسفات نمکی (PBS) با $\text{pH}=7/4$ به نسبت حجمی/وزنی ۱:۱ عصاره‌گیری و با استفاده از پودر کربوراندوم روی گیاهان توتون تیمار شده با عصاره‌ها مایه‌زنی شد.

نمونه‌برداری و تجزیه و تحلیل داده‌ها

این آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار فاکتور شامل نوع جلبک (سه سطح)، روش عصاره‌گیری (در دو سطح) و غلظت (در سه سطح) همراه با شاهد با چهار تکرار انجام گرفت. یک ماه پس از مایه زنی ویروس و اعمال تیمارها، برگ‌های دوم، سوم و چهارم (جوان‌ترین برگ‌ها) هر بوته از رأس گیاه چیده شد (El-sawy *et al.* 2017) و با روش کانورس و مارتین (Converse and Martin, 1990) جهت آزمون الایزا

به‌عنوان میزبان PVY جهت تکثیر ویروس وای سیب‌زمینی (Accession: MF688631.1) در شرایط گلخانه کشت شد و مایه‌زنی مکانیکی بوته‌ها انجام گرفت. در این پژوهش، از یک جدایه ویروس وای سیب‌زمینی (Accession: MF688631.1) که از گیاه توتون به‌دست آمده و در آزمون‌های صورت گرفته خلوص آن مشخص شده بود، استفاده شد (Damirdagh and Shephard, 1970). پس از ظهور علائم موزاییک در بوته‌ها، از آزمون الایزا غیرمستقیم بر اساس روش کلارک و آدامز (Clark and Adams, 1977) برای تأیید ویروس وای سیب‌زمینی استفاده شد. خالص‌سازی ویروس وای سیب‌زمینی با استفاده از پلی‌اتیلن گلیکول (Polyethylenglycol 6000) و بر اساس روش بتمن و چانت (Bateman and Chant, 1979) صورت گرفت. پس از این مرحله، میزان جذب آموده خالص شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۳۰۰ تا ۳۲۰ نانومتر سنجش شد.

جمع‌آوری و آماده‌سازی نمونه‌ها

جلبک‌های مورد مطالعه در این تحقیق از بندرگاه و سواحل روستای هلیله از توابع شهر بوشهر و در امتداد دریای خلیج فارس در مهرماه ۱۳۹۷ جمع‌آوری شدند. نمونه‌ها پس از حذف آلودگی توسط شستشو با جریان آب، جهت شناسایی به مرکز تحقیقات ذخایر آب‌های داخلی - گرگان منتقل و توسط کارشناسان مؤسسه مذکور، سه گونه جلبک شامل *Padina australis*، *Gracilaria corticata* و *Digena simplex* شناسایی شدند. نمونه‌های جلبک به مدت ۴ روز در دمای ۶۰ درجه در آون خشک شدند. سپس نمونه‌ها به وسیله آسیاب خرد گردیده به‌طوری که بافت‌های آسیاب شده از الک یک مش عبور کند (Cho *et al.*, 2011). پس از آن نمونه‌ها تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری گردیدند.

در این آزمایش عصاره‌گیری از نمونه‌ها به روش غوطه‌وری با استفاده از حلال‌های آب و الکل (اتانول ۷۰ درصد) طی دو مرحله توسط دستگاه شیکر انجام شد. بدین‌صورت که مقدار ۲۰ گرم از بافت آسیاب شده به ارلن‌های

بودند. در آزمون الایزا عصاره گیاه سالم نیز مقداری جذب نشان می داد، به همین دلیل، برای تعیین نمونه های آلوده و مشخص کردن تیترو ویروس، نمونه ای را آلوده در نظر گرفتیم که میزان جذب نوری آن حداقل سه برابر میانگین جذب نوری گیاهان سالم در همان رقت باشد، یا به عبارتی میزان جذب آن برابر و یا بیشتر از $3\bar{X} + Sd$ باشد، که در این فرمول $\bar{X}$ میانگین جذب گیاهان سالم و Sd انحراف معیار جذب در این گیاهان است.

شدت علائم ویروس وای سیبزمینی

بررسی نتایج تجزیه واریانس نشان داد، اثر اصلی نوع جلبک و نوع عصاره استفاده شده (آبی و الکلی) در سطح احتمال یک درصد شدت علائم ویروس وای سیبزمینی را تحت تأثیر قرار داد. همچنین این نتایج نشان داد اثر غلظت و به اثر متقابل آن ها بر شدت علائم ویروس معنی دار نبود (جدول ۱). مقایسه میانگین اثر نوع جلبک مورد استفاده نشان داد که بین تیمارها در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی دار وجود دارد. کمترین شدت علائم مربوط به عصاره جلبک *P. australis* با میانگین ۷/۷۹ درصد و بیشترین شدت علائم پس از شاهد مربوط به عصاره جلبک *D. simplex* با میانگین ۱۳/۱۵ درصد می باشد. عصاره جلبک *P. australis* موجب کاهش ۵۵/۰۶ درصدی شدت علائم ویروسی نسبت به شاهد گردید. عصاره دو جلبک *D. simplex* و *G. corticata* بدون اختلاف معنی دار در یک گروه آماری قرار گرفتند (شکل ۱ الف).

غیرمستقیم استفاده شد. با استفاده از دستگاه کلروفیل سنج مدل SPAD 502 میزان کلروفیل هر بوته اندازه گیری شد. جهت اندازه گیری شدت علائم بیماری ایجاد شده در گیاهان آلوده، از مقیاس معتبر وریر و همکاران (Verrier et al., 2001) و معادله که در این معادله، x_i = درجه سطح آلودگی، n_i = تعداد برگ های بیمار با هر درجه سطح آلودگی و N = تعداد کل برگ های مورد بررسی می باشد. مقیاس هفت طبقه ای مورد استفاده جهت اندازه گیری شدت بیماری شامل صفر (بدون علائم موزائیک)، ۱ (موزائیک خفیف کمتر از ۲۰ درصد برگ ها)، ۳ (موزائیک ۴۰-۶۰ درصد برگ ها)، ۵ (موزائیک شدید ۶۰-۸۰ درصد برگ ها)، ۷ (موزائیک ۱۰۰ درصد برگ ها به همراه بدشکلی خفیف)، ۹ (موزائیک ۱۰۰ درصد برگ ها به همراه بدشکلی شدید و باریک شدن برگ ها) و ۱۱ (علائم نکروز رگبریگی در بوته ها) بود (Verrier et al., 2001). در این آزمایش داده های خام با نرم افزار SAS version 9.1 تجزیه و تحلیل شد و با استفاده از آزمون LSD در سطح پنج درصد هرگونه تفاوت معنی دار بین میانگین تیمارها مشخص شد.

نتایج

آزمون الایزا

در این آزمایش تمام نمونه های مایه زنی شده به ویروس وای سیب زمینی پس از یک ماه در تست الایزا دارای واکنش مثبت

جدول ۱- میانگین مربعات منابع تغییر برای صفات شدت علایم بیماری، میزان جذب در آزمون الایزا و میزان کلروفیل برگ گیاه توتون

Table 1. Mean squares of change sources for disease severity, absorbance of ELISA and leaf chlorophyll content of tobacco plant

Mean squares (MS)			Degree of freedom (df)	Source of variation
Chlorophyll content	Absorbance of ELISA (OD)	Disease severity		
376/87 **	12/00 **	205/39 **	2	Seaweed
721/34 **	6/12 **	130/25 **	1	Extract
23/89 ns	0/02 ns	0/03 ns	1	Concentration
12/06 ns	0/42 ns	2/51 ns	2	Seaweed × Extract
42/34 ns	0/10 ns *	70/65 ns	2	Seaweed × Concentration
2/87 ns	0/14 ns	3/17 ns	1	Extract × Concentration
123/16 ns	0/03 ns	23/37 ns	2	Seaweed × Concentration Extract
16/95	0/02	6/32	22	Error
20/29	5/59	22/54		C.V. %

میزان غلظت نهایی ویروس از خود نشان داد و عصاره اتانولی موجب کاهش ۲۴/۰۴ درصدی میزان غلظت نهایی ویروس نسبت به عصاره آبی گردید (شکل ۲ ب).

میزان کلروفیل

نتایج این آزمایش نشان می‌دهد که اثر نوع جلبک و نوع عصاره، میزان کلروفیل برگ‌های گیاه توتون را در سطح احتمال یک درصد تحت تأثیر قرار دادند. سایر عوامل آزمایشی در رابطه با این صفت بدون اختلاف معنی‌دار بودند (جدول ۱).

مقایسه میانگینها اثر نوع جلبک نشان می‌دهد (شکل ۳ الف) جلبک با میانگین (۲۵/۳۵) موجب افزایش ۵۹/۹۶ درصدی میزان کلروفیل نسبت به تیمار شاهد (عدم محلول پاشی) شد. کمترین میزان کلروفیل گیاهچه‌های توتون بعد از شاهد مربوط به محلول پاشی عصاره جلبک *G. corticata* با میانگین ۱۴/۲۷ است. عصاره جلبک *D. simplex* در گروه آماری بعدی قرار گرفت.

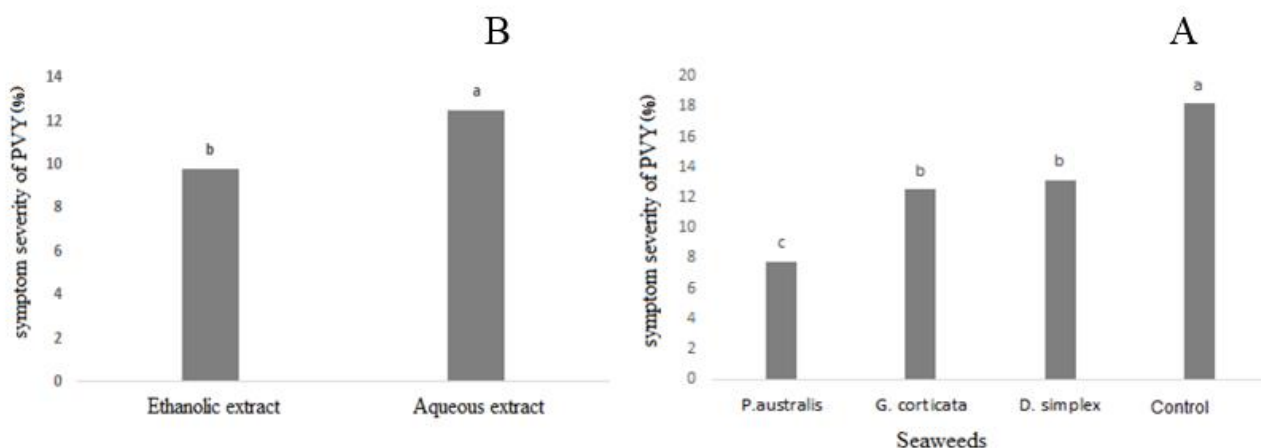
همچنین نتایج مربوط به نوع عصاره‌ها نشان می‌دهد که اثر این فاکتور نیز بر میزان کلروفیل در سطح احتمال یک درصد دارای اختلاف معنادار می‌باشد (جدول ۱ و شکل ۳ ب). اما فاکتور غلظت و اثرات متقابل آن‌ها برای این صفت بدون اختلاف معنی‌دار بود (جدول ۱). باین‌حال با افزایش غلظت، میزان کلروفیل گیاهچه‌های تحت تیمار افزایش یافته و بیشترین میزان کلروفیل مربوط به محلول پاشی با غلظت ۲۰ درصد می‌باشد.

مقایسه میانگین اثر تیمار نوع عصاره مورد استفاده نشان داد که استفاده از عصاره‌های اتانولی جلبک‌ها در مقایسه با عصاره آبی موجب بیشترین کاهش شدت علائم ویروس می‌شود. در این پژوهش میانگین شدت علائم در تیمار استفاده از عصاره‌ی اتانولی و عصاره آبی به ترتیب ۹/۸۱ و ۱۲/۵۰ درصد به دست آمد (شکل ۱ ب).

غلظت نهایی ویروس وای سب‌زمینی

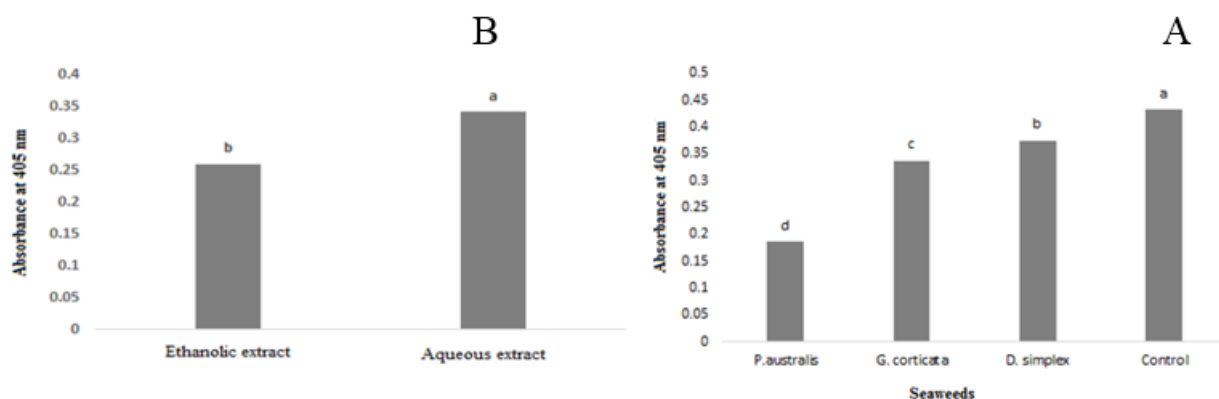
نتایج جدول یک نشان داد اثر نوع جلبک و روش عصاره‌گیری (اتانولی و آبی) بر میزان غلظت نهایی ویروس در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار می‌باشد. هیچ اختلاف معنی‌داری بین اثر غلظت مورد استفاده، مشاهده نشد باین‌حال با افزایش غلظت عصاره‌ها میزان غلظت نهایی ویروس کاهش یافت. بر اساس این نتایج اثر متقابل آن‌ها در رابطه با این صفت معنی‌دار نبود.

مقایسه میانگین اثر نوع جلبک مورد استفاده نشان داد که هر کدام از این تیمارها در یک گروه آماری مجزا قرار گرفتند و جلبک‌های *P. australis* و *G. corticata* به ترتیب با داشتن میانگین جذب نوری ۰/۱۸۶ و ۰/۳۳۷ دارای کمترین میزان غلظت نهایی ویروس بودند. بیشترین میزان غلظت ویروس بعد از شاهد منفی مربوط به جلبک *D. simplex* بود (شکل ۲ الف). مقایسه میانگین اثر نوع عصاره اتانولی و آبی نشان داد که عصاره‌ی اتانولی در مقایسه با عصاره آبی بیشترین کاهش را در



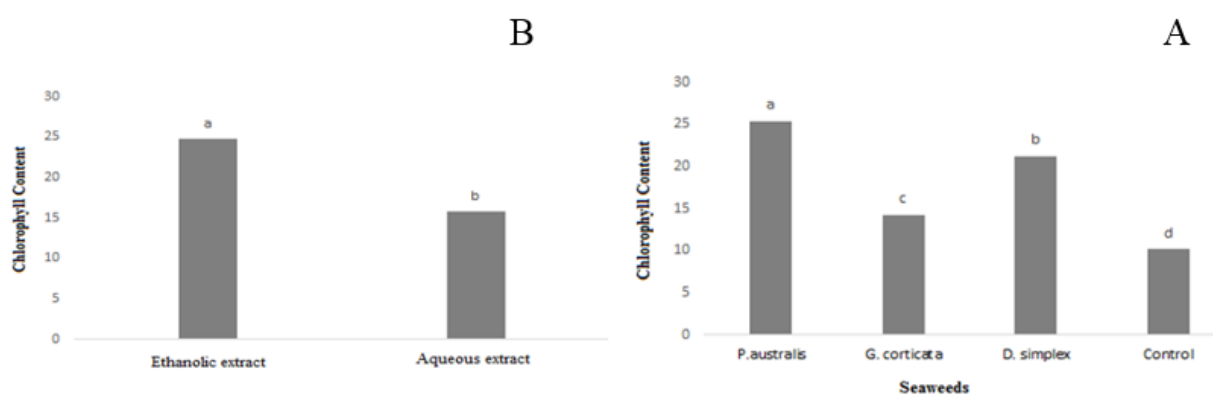
شکل ۱- مقایسه میانگین اثر تیمار نوع جلبک (الف) و روش عصاره‌گیری (ب) بر شدت علائم ویروس وای سب‌زمینی روی توتون

Fig. 1. Comparison of the mean effect of algal type treatment (A) and the type of extraction methods (B) on the severity of the symptoms of PVY on tobacco



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر نوع جلبک (الف) و روش عصاره گیری (ب) بر میزان جذب در آزمون الیزا

Fig. 2. Comparison of the average effect of algal type treatment (A) and the type of extraction methods (B) on the mean of absorbance of ELISA



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر نوع جلبک (الف) و اثر روش عصاره گیری (ب) بر میزان کلروفیل در برگ توتون آلوده به PVY

Fig. 3. Comparison of the average effect of algal type treatment (A) and the type of extraction methods (B) on chlorophyll content of PVY infected tobacco leaves

بحث

ویروس هاست، که در این مکانیسم، پلی ساکاریدهای موجود در ترکیبات عصاره جلبک ها، از اتصال ویروس به غشا سلول میزبان جلوگیری می کنند، بنابراین ویروس نمی تواند وارد سلول ها شود و در نتیجه شدت آلودگی کاهش می یابد (Hamed *et al.*, 2018). پلی ساکاریدهای جدا شده از جلبک های قهوه ای با جلوگیری از اتصال ویروس به غشای سلول های گیاهی دارای فعالیت های ضد ویروسی موثری هستند (Jiao *et al.*, 2011). لکترین های متصل به مانوز در پیشگیری و درمان عفونت های ناشی از ویروس از اهمیت فوق العاده ای برخوردارند، این لکترین ها گلیکان های موجود در سطح سلول ها

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد، محلول پاشی عصاره اتانولی و آبی جلبک ها شدت علائم ویروسی و غلظت نهایی ویروس را کاهش داد. مطالعات نشان داده است که ترکیبات موجود در عصاره جلبک ها موجب تحریک اسید سالیسیلیک در گیاه شده و در نتیجه موجب افزایش پاسخ دفاعی گیاه در برابر ویروس می شود، بنابراین این عصاره ها مقاومت گیاه را بهبود می بخشند (Sudirman *et al.*, 2018). مکانیسم دیگری که موجب مهار ورود ویروس به سلول میزبان می شود، از طریق رقابت ترکیبات موجود در عصاره ها به ویژه پلی ساکاریدها با

را که برای ورود ویروس مورد نیاز است، هدف قرار می‌دهند (Balzarini, 2007). انواع لکتین‌ها از طیف وسیعی موجودات مختلف از جمله گیاهان، حیوانات، باکتری‌ها قارچ‌ها و جلبک‌ها گزارش شده است (Golotin *et al.*, 2019). وجود برخی از پروتئین‌ها در عصاره جلبک‌ها به طور غیر مستقیم از آلودگی ویروس جلوگیری می‌کند. این پروتئین‌ها ضد ویروس نیستند، اما سیستم‌های گیاهی را از طریق سیستم مقاومت اکتسابی (SAR) وادار به تولید پروتئین‌های جدید در گیاهان می‌کنند، که پروتئین‌های ضد ویروس هستند. این پروتئین‌ها در ارسال پیام برای فعال کردن مکانیسم‌های دفاعی در گیاهان مؤثر می‌باشند (Verma *et al.*, 1998). همچنین نتایج محققان نشان داده است که جلبک‌ها دارای ترکیبات زیست فعال از جمله پلی‌فنل‌ها، آلکالوئیدها، ترپن‌ها، رنگدانه‌ها، استرول‌ها، اسیدهای چرب و چندین ترکیب دیگر هستند که به‌طور قابل توجهی به‌عنوان ضد ویروس، ضد باکتری و ضد سرطان استفاده می‌شوند (Biris-Dorhoi *et al.*, 2020; Hentati *et al.*, 2020; Martins *et al.*, 2022). آلساکانکریا و همکاران (Stadnik and De Freitas, 2014) گزارش دادند که عصاره جلبک‌ها شامل طیف وسیعی از ترکیبات فعال از جمله (اسیدهای آلی، اسیدهای آمینه، ویتامین‌ها، هورمون‌ها، آنزیم‌ها) است. پژوهش‌های زید و همکاران (Zaid *et al.*, 2016)، محمد و همکاران (Mohamed *et al.*, 2012)، ال-گامال (El-Gamal, 2010) و پولز و گراس (Pulz and Gross, 2004) اثرات ضد ویروسی جلبک‌های دریایی را تأیید می‌کند. مکانیسم جلبک‌ها در مهار تکثیر ویروس‌های گیاهی نیز توسط محققان مختلفی گزارش شده است. گیاهان سالم حاوی مقدار زیادی پروتئین محلول هستند که اجزای سنتز پروتئین پوششی ویروس را تشکیل می‌دهند. القای عصاره جلبک‌ها در گیاهان می‌تواند سطح پروتئین محلول را کاهش دهد و محیط را برای تکثیر ویروس نامناسب کند (Martins *et al.*, 2022). ژائو و همکاران (Zhao *et al.*, 2016) گزارش نمودند که جلبک‌ها تکثیر ویروس ایکس سیب‌زمینی را تا ۹۵ درصد در سیب‌زمینی مهار می‌کنند. ژائو و همکاران (Zhao *et al.*, 2015) و استادینیک و دی‌فریتاس (Stadnik and De Freitas, 2014) نیز گزارش نمودند، جلبک‌های *Dictyota spp.* دارای فعالیت ضد ویروسی در برابر ویروس‌های گیاهی به‌دلیل وجود پلی‌ساکاریدهاست. کاربرد عصاره جلبک‌ها موجب افزایش چندین فعالیت آنزیمی مانند پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز و فنل می‌شود که در سرکوب عفونت ویروسی نقش دارند (Abdelkhalek *et al.*, 2021). جلبک‌ها و گیاهان توانایی تولید مواد فعال زیستی به‌ویژه فلاونوئیدها را دارند که می‌تواند در سرکوب پاتوژن‌ها نقش داشته باشد. فلاونوئید در حفاظت گیاه در برابر عوامل زیستی (گیاهخواران، پاتوژن‌ها) و عوامل غیر زیستی (اشعه UV، گرما) نقش دارند (Mierziak *et al.*, 2014). همچنین نتایج این پژوهش نشان داد، استفاده از عصاره جلبک‌ها موجب افزایش میزان کلروفیل شد. پنگ و همکاران (Peng *et al.*, 2004) اعلام نموده‌اند که با افزایش غلظت ویروس‌های گیاهی، نرخ فتوسنتز کاهش می‌یابد. پاپاجورجیو و گویندجی (Papageorgiou and Govindjee, 2005) نیز اعلام داشته‌اند که در گیاهان سالم نسبت کلروفیل a به b بصورت ۳ به ۱ است و در گیاهان آلوده به ویروس‌های گیاهی این نسبت به‌صورت ۲ به ۱ در می‌آید. در تحقیق حاضر ثابت شده‌است که آلودگی ویروسی ناشی از ویروس وای سیب‌زمینی، سبب تخریب ساختار کلروپلاست و سلول شد و میزان کلروفیل کاهش یافته‌است. ریسلاوا و همکاران (Ryslava *et al.*, 2003) اعلام نمودند که آلودگی ویروسی ناشی از ویروس وای سیب‌زمینی بروی فتوسنتز تأثیر سوء می‌گذارد. بنابراین انتظار می‌رود با کاهش غلظت نهایی ویروس، میزان کلروفیل افزایش پیدا کند. همچنین پژوهش‌ها نشان داده است، جلبک‌ها دارای ترکیباتی از جمله تنظیم‌کننده‌های رشد، اسیدهای آمینه و عناصر ماکرو و میکرو هستند، که موجب تحریک و افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش خشکی شده و همچنین از اکسید شدن برخی ویتامین‌ها از جمله ویتامین‌های E و C که در کلروپلاست وجود دارند، جلوگیری می‌کنند و در نتیجه کارایی فرآیند فتوسنتز و سبزی‌نگی گیاه را افزایش می‌دهند (Eliwii Al-Dulami and Al-Fahd, 2023).

را که برای ورود ویروس مورد نیاز است، هدف قرار می‌دهند (Balzarini, 2007). انواع لکتین‌ها از طیف وسیعی موجودات مختلف از جمله گیاهان، حیوانات، باکتری‌ها قارچ‌ها و جلبک‌ها گزارش شده است (Golotin *et al.*, 2019). وجود برخی از پروتئین‌ها در عصاره جلبک‌ها به طور غیر مستقیم از آلودگی ویروس جلوگیری می‌کند. این پروتئین‌ها ضد ویروس نیستند، اما سیستم‌های گیاهی را از طریق سیستم مقاومت اکتسابی (SAR) وادار به تولید پروتئین‌های جدید در گیاهان می‌کنند، که پروتئین‌های ضد ویروس هستند. این پروتئین‌ها در ارسال پیام برای فعال کردن مکانیسم‌های دفاعی در گیاهان مؤثر می‌باشند (Verma *et al.*, 1998). همچنین نتایج محققان نشان داده است که جلبک‌ها دارای ترکیبات زیست فعال از جمله پلی‌فنل‌ها، آلکالوئیدها، ترپن‌ها، رنگدانه‌ها، استرول‌ها، اسیدهای چرب و چندین ترکیب دیگر هستند که به‌طور قابل توجهی به‌عنوان ضد ویروس، ضد باکتری و ضد سرطان استفاده می‌شوند (Biris-Dorhoi *et al.*, 2020; Hentati *et al.*, 2020; Martins *et al.*, 2022). آلساکانکریا و همکاران (Stadnik and De Freitas, 2014) گزارش دادند که عصاره جلبک‌ها شامل طیف وسیعی از ترکیبات فعال از جمله (اسیدهای آلی، اسیدهای آمینه، ویتامین‌ها، هورمون‌ها، آنزیم‌ها) است. پژوهش‌های زید و همکاران (Zaid *et al.*, 2016)، محمد و همکاران (Mohamed *et al.*, 2012)، ال-گامال (El-Gamal, 2010) و پولز و گراس (Pulz and Gross, 2004) اثرات ضد ویروسی جلبک‌های دریایی را تأیید می‌کند. مکانیسم جلبک‌ها در مهار تکثیر ویروس‌های گیاهی نیز توسط محققان مختلفی گزارش شده است. گیاهان سالم حاوی مقدار زیادی پروتئین محلول هستند که اجزای سنتز پروتئین پوششی ویروس را تشکیل می‌دهند. القای عصاره جلبک‌ها در گیاهان می‌تواند سطح پروتئین محلول را کاهش دهد و محیط را برای تکثیر ویروس نامناسب کند (Martins *et al.*, 2022). ژائو و همکاران (Zhao *et al.*, 2016) گزارش نمودند که جلبک‌ها تکثیر ویروس ایکس سیب‌زمینی را تا ۹۵ درصد در سیب‌زمینی مهار می‌کنند. ژائو و همکاران (Zhao *et al.*, 2015) و استادینیک و دی‌فریتاس (Stadnik and De Freitas, 2014) نیز گزارش نمودند، جلبک‌های *Dictyota spp.* دارای فعالیت ضد ویروسی در برابر ویروس‌های گیاهی به‌دلیل وجود پلی‌ساکاریدهاست. کاربرد عصاره جلبک‌ها موجب افزایش چندین فعالیت آنزیمی مانند پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز و فنل می‌شود که در سرکوب عفونت ویروسی نقش دارند (Abdelkhalek *et al.*, 2021). جلبک‌ها و گیاهان توانایی تولید مواد فعال زیستی به‌ویژه فلاونوئیدها را دارند که می‌تواند در سرکوب پاتوژن‌ها نقش داشته باشد. فلاونوئید در حفاظت گیاه در برابر عوامل زیستی (گیاهخواران، پاتوژن‌ها) و عوامل غیر زیستی (اشعه UV، گرما) نقش دارند (Mierziak *et al.*, 2014). همچنین نتایج این پژوهش نشان داد، استفاده از عصاره جلبک‌ها موجب افزایش میزان کلروفیل شد. پنگ و همکاران (Peng *et al.*, 2004) اعلام نموده‌اند که با افزایش غلظت ویروس‌های گیاهی، نرخ فتوسنتز کاهش می‌یابد. پاپاجورجیو و گویندجی (Papageorgiou and Govindjee, 2005) نیز اعلام داشته‌اند که در گیاهان سالم نسبت کلروفیل a به b بصورت ۳ به ۱ است و در گیاهان آلوده به ویروس‌های گیاهی این نسبت به‌صورت ۲ به ۱ در می‌آید. در تحقیق حاضر ثابت شده‌است که آلودگی ویروسی ناشی از ویروس وای سیب‌زمینی، سبب تخریب ساختار کلروپلاست و سلول شد و میزان کلروفیل کاهش یافته‌است. ریسلاوا و همکاران (Ryslava *et al.*, 2003) اعلام نمودند که آلودگی ویروسی ناشی از ویروس وای سیب‌زمینی بروی فتوسنتز تأثیر سوء می‌گذارد. بنابراین انتظار می‌رود با کاهش غلظت نهایی ویروس، میزان کلروفیل افزایش پیدا کند. همچنین پژوهش‌ها نشان داده است، جلبک‌ها دارای ترکیباتی از جمله تنظیم‌کننده‌های رشد، اسیدهای آمینه و عناصر ماکرو و میکرو هستند، که موجب تحریک و افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش خشکی شده و همچنین از اکسید شدن برخی ویتامین‌ها از جمله ویتامین‌های E و C که در کلروپلاست وجود دارند، جلوگیری می‌کنند و در نتیجه کارایی فرآیند فتوسنتز و سبزی‌نگی گیاه را افزایش می‌دهند (Eliwii Al-Dulami and Al-Fahd, 2023).

فنل‌های آزاد، آنزیم‌های اکسیداتیو، پراکسیداز، پلی فنول اکسیداز و فنیل آلانین آمونیاک لیاز می‌شود و این عوامل باعث افزایش القای مقاومت سیستمیک شده و این مقاومت کاهش شدت و علائم و کاهش ذرات ویروسی را باعث می‌شود. نتایج پژوهش حاضر نشان داد، بیشترین کاهش در شدت علائم، غلظت نهایی ویروس و بیشترین افزایش در میزان کلروفیل مربوط به جلبک *P. australis* می‌باشد و این نتایج حاکی از ارجحیت عصاره اتانولی نسبت به عصاره آبی بود.

سپاسگزاری

بدین وسیله از مرکز تحقیقات شیلات استان هرمزگان که در تهیه و جمع‌آوری جلبک‌های خلیج فارس همکاری داشته‌اند نهایت تشکر را می‌نمایند.

داشتن سه ماده آمینوبوتیرات، گلیسین بتائین و بتائین در عصاره استخراج شده در گیاهان تحت تیمار باعث افزایش میزان کلروفیل برگ می‌شود و همچنین محلول‌پاشی عصاره جلبک دریایی موجب تحریک فتوسنتز شده و منجر به تولید بهتر قند و نشاسته‌ها می‌شود. در برخی مطالعات مشاهده شده است که بهبود فتوسنتز توسط گلیسین بتائین در گیاهان تحت تنش سرما، به افزایش کارایی فتوسیستم دو مربوط می‌شود. گلیسین بتائین همانند یک محافظ اسمزی در کلروپلاست‌های گیاه تحت تنش عمل می‌کند (Abdel-latif *et al.*, 2018). طبق نظر الساوی و همکاران (El-Sawy *et al.*, 2017) عصاره جلبک باعث القای مقاومت سیستمیک در برابر ویروس موزاییک خیار (CMV) در بادمجان می‌شود و این القای مقاومت شدت و بروز بیماری CMV را در بادنجان به‌طور معنی‌داری کاهش می‌دهد. طی این تحقیق عصاره جلبک دریایی باعث افزایش تجمع

References

- ABDELKHALEK, A., S.H. QARI, M.A.A. ABU-SAIED, A.M. KHALIL, H.A. YOUNES, Y. NEHELA and S.I. BEHIRY, 2021. Chitosan nanoparticles inactivate alfalfa mosaic virus replication and boost innate immunity in *Nicotiana glutinosa* plants. *Plants* (Basel), 10(12): 2701.
DOI: <http://doi.org/10.3390/plants10122701>
- ABDEL-LATIF, A., R. BADR, I. HASSAN and G. OSMAN, 2018. Effect of *Ulva lactuca* aqueous extract on growth, minerals, chlorophyll content, rubisco activity and rubisco activase in *Zea mays* seedlings. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 12(2): 611-622.
DOI: <http://doi.org/10.22207/jpam.12.2.19>
- BALZARINI, J, 2007. Targeting the glycans of glycoproteins: a novel paradigm for antiviral therapy. *Nature Reviews Microbiology*, 5: 583.
DOI: <http://doi.org/10.1038/nrmicro1707>
- BATEMAN, J. G. and S. R. CHANT, 1979. A modification of the polyethylene glycol technique for the purification of small quantities of *tobacco mosaic virus*. *Microbios*, 25(99): 33-43.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/393959/>
- BIRIS-DORHOI, E.S., D. MICHIU, C.R. POP, A.M. ROTAR, M. TOFANA, O.L. POP, S.A. SOCACI and A.C. FARCAS, 2020. Macroalgae-A sustainable source of chemical compounds with biological activities. *Nutrients*, 12(10): 3085.
DOI: <http://doi.org/10.3390/nu12103085>
- CHO, M., H. S. LEE, I. J. KANG, M. H. WON and S. YOU, 2011. Antioxidant properties of extract and fractions from *Enteromorpha prolifera*, a type of green seaweed. *Food Chemistry*, 127(3): 999-1006.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.072>
- CLARK, M. F. and A. N. ADAMS, 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant

- viruses. *Journal of General Virology*, 34(3): 475–483.
DOI: <http://doi.org/10.1099/0022-1317-34-3-475>
- CONVERSE, R. H., and R. R. MARTIN, 1990. ELISA methods for plant viruses. R., Ball, E. and Deboer, S. (Eds). *Serological methods for detection and identification of viral and bacterial plant pathogens*. Hampton Academic Press. Pp: 179-196.
- COX, S., N. ABU-GHANNAM and S. GUPTA, 2010. An assessment of the antioxidant and antimicrobial activity of six species of edible Irish seaweeds. *International Food Research Journal*, 17: 205-220.
DOI: <http://doi.org/10.21427/D7HC92>
- DAMIRDAGH, I. S., and R.J. SHEPHARD, 1970. Purification of the Tobacco etch and other viruses of Potato Y group. *Phytopathology*, 60: 32-142.
DOI: <http://doi.org/10.1094/Phyto-60-132>
- EL-GAMAL, A. A., 2010. Biological importance of marine algae. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 18(1): 1-25.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.jsps.2009.12.001>
- EL-SAWY, M. M., M. M. ELSHARKAWY, J. MOHAMED ABASS and M. H. KASEM, 2017. Antiviral activity of 2-Nitromethyl Phenol, Zinc Nanoparticles and Seaweed extract against Cucumber mosaic virus (CMV) in Eggplant. *Journal of Virology and Antiviral Research*, 6(2): 90663694.
DOI: <http://doi.org/10.4172/2324-8955.1000173>
- ELIWII AL-DULAMI, A.K. and M.A.W. AL-FAHD, 2023. Bio-Mass Production of *Spirulina platensis* and Its use in Inducing Hostility Resistance Against Potyvirus Potato virus y. *Fifth International Conference for Agricultural and Environment Sciences*, 1158. DOI: <http://doi.org/10.1088/1755-1315/1158/7/072018>
- GOLOTIN, V. A., A. P. FILSHTIN, I. V. CHIKALOVETS, N. Y. KIM, V. I. MOLCHANOVA and O. V. CHERNIKOV, 2019. Expression and purification of a new lectin from mussel *Mytilus trossulus*. *Protein Expression and Purification*, 154: 62-65.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.pep.2018.10.003>
- HAMED, S.M., A.A.A. EL-RHMAN, N. ABDEL-RAOUF and I.B.M. IBRAHEEM, 2018. Role of marine macroalgae in plant protection & improvement for sustainable agriculture technology. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 7(1): 104-110.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.bjbas.2017.08.002>
- HENTATI, F., L. TOUNSI, D. DJOMDI, G. PIERRE, C. DELATTRE, A.V. URSU, I. FENDRI, S. ABDELKAFI and P. MICHAUD, 2020. Bioactive polysaccharides from seaweeds. *Molecules*, 25(14): 3152. DOI: <http://doi.org/10.3390/molecules25143152>
- HUANG, C. Y., S. J. WU, W. N. YANG, A. W. KUAN and C. Y. CHEN, 2016. Antioxidant activities of crude extracts of fucoidan extracted from *Sargassum glaucescens* by a compressional-puffing-hydrothermal extraction process. *Food Chemistry*, 197: 1121-9.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.100>
- HULL, R., 2002. *Matthews' plant virology*. Academic Press, San Diego, California
- JIAO, G., G. YU, J. ZHANG and H. S. EWART, 2011. Chemical structures and bioactivities of sulfated polysaccharides from marine algae. *Marine Drugs*, 9(2): 196–223. DOI: <http://doi.org/10.3390/md9020196>
- MARTINS, B., M. VIEIRA, C. DELERUE-MATOS, C. GROSSO and C. SOARES, 2022. Biological potential, gastrointestinal digestion, absorption, and bioavailability of algae-derived compounds with neuroprotective activity: A comprehensive review. *Marine Drugs*, 20(6): 362.
DOI: <http://doi.org/10.3390/md20060362>
- MIERZIAK, J., K. KOSTYN and A. KULA, 2014. Flavonoids as important molecules of plant interaction with the environment. *Molecules*, 19: 16240-16265.
<https://doi.org/10.3390/molecules191016240>
- MOHAMED, S., S. N. HASHIM and H. A. RAHMAN, 2012. Seaweeds: a sustainable functional food for complementary and alternative therapy. *Trends in Food Science and Technology*, 23(2): 83–96.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.09.001>
- MORYA, V. K., J. KIM and E. K. KIM, 2012. Algal fucoidan: structural and size dependent bioactivities and their perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 93: 71–82.

- DOI: <http://doi.org/10.1007/s00253-011-3666-8>
- NAGORSKAIA, V. P., A. V. REUNOV, L. A. LAPSHINA, I. M. ERMAK and A. O. BARABANOVA, 2008. Influence of kappa/beta-carrageenan from red alga *Tichocarpus crinitus* on development of local infection induced by tobacco mosaic virus in Xanthine tobacco leaves. *Izvestiia Akademii nauk. Seriya Biologicheskaya*, 35(3): 360-364. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18668717>. DOI: <http://doi.org/10.1090/0022>
- OBIED, H. K., M. S. ALLEN, D. R. BEDGOOD, P. D. PRENZLER and K. ROBARDS, 2005. Investigation of Australian olive mill waste for recovery of biophenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(26): 9911-9920. DOI: <http://doi.org/10.1021/jf0518352>
- PAPAGEORGIOU, G. and C. GOVINDJEE, 2005. Chlorophyll a fluorescence, asignature of photosynthesis. *Advances in Photosynthesis and Respiration*, 19: 100-105. Doi: <http://doi.org/10.1007/978-1-4020-3218-9>
- PARDEE, K. L., P. ELLIS, M. BOUTHILLIER, G. H. N. TOWERS and C. J. FRENCH, 2004. Plant virus inhibitors from marine algae. *Canadian Journal of Botany*, 82(3): 304-309. DOI: <http://doi.org/10.1139/b04-002>
- PENG, Y., J. LEI, L. HUANG and J. YU, 2004. Effects of *Potato Virus Y* infection on chloroplast ultrastructure, photosynthesis and chlorophyll fluorescence quenching in potato leaves (abstract). *Acta Phytopathologica Sinica*, 34(1): 32-36. DOI: <http://doi.org/10.1000/0022-1317-34-3-475>
- POONAM, S, 2015. The seaweed *Caulerpa taxifolia* was tested for activity against tobacco necrotic virus (TNV). *International Journal of Virology and Molecular Biology*, 4(1): 1-3. DOI: <http://doi.org/10.5923/j.ijvmb.20150401.01>
- PULZ, O. and W. GROSS, 2004. Valuable products from biotechnology of microalgae. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 65: 635-648. DOI: <http://doi.org/10.1007/s00253-004-1647-x>
- REYNOLDS, R. J, 2011. *Potato virus Y* (PVY) in Burly tobacco. *Phytopathology*, 103: 81-84. DOI: <http://doi.org/10.1091/0002-1317-34-3-475>
- RYSLAVA, H., K. MULLER, S. SEMORADOVA, H. SYNKOVA and N. CEROVSKA, 2003. Photosynthesis and activity of phosphoenolpyruvate carboxylase in *Nicotiana tabacum* L. leaves infected by *Potato Virus A* and *Potato Virus Y*. *Photosynthetica*, 41(3): 357-363. DOI: <http://doi.org/10.1023/B:PHOT.0000015459.22769.bf>
- SHAZDEHAHMADI, M. and M. R. SALAVATI MEYBODI, 2016. Evaluation of relative resistance of tobacco to potato virus Y using microsatellite markers (SSR). *Agricultural Biotechnology*, 6(2): 97-106. DOI: <http://doi.org/10.1090/0022-1317-34-3-475>
- STADNIK, M.J., and M.B. DE FREITAS, 2014. Algal polysaccharides as source of plant resistance inducers. *Tropical Plant Pathology*, 39: 111-118. DOI: <http://doi.org/10.1590/S1982-56762014000200001>
- SUDIRMAN, S., Y.H. HSU, J.L. HE and Z.L. KONG, 2018. Dietary polysaccharide-rich extract from *Eucheuma cottonii* modulates the inflammatory response and suppresses colonic injury on dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *Plos One*, 13(10): 205-252. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0205252>
- VERMA, H. N., V. K. BARANWAL and S. SRIVASTAVA, 1998. Antiviral substances of plant origin. In *plant virus disease control*, A. R. K. Hadidi, Khetarpal and H. Koganezawa (Eds.) APS. Press. St. Paul. Minnesota, 154-162.
- VERRIER, J. L., V. MARCHAND, B. CAILLETEAU and R. DELON, 2001. Chemical change and cigarette smoke mutagenicity increase associated with CMV and PVY infection in burley tobacco. *Coresta meet. Agro Phyto groups*. Cape Town, South Africa, 1-12. DOI: <http://doi.org/10.1009/0022-1317-34-3-475>
- WAZIRI, H. M. A, 2015. Plants as antiviral agents. *Journal of Plant Pathology and Microbiology*, 6(2): 288-301. DOI: <http://doi.org/10.4172/2157-7471.1000254>
- ZAID, S. A. A., K. S. D. ABDEL-WAHAB, N. N. ABED, E. K. ABO ELMAGD and R. A. SALAHELDIN, 2016.

Screening for antiviral activities of aqueous extracts of some Egyptian seaweeds. The Egyptian Journal of Hospital Medicine, 64: 430-435.

DOI: <http://doi.org/10.12816/0029035>

ZHAO, L., X.A. HAO and YF. WU, 2015. Inhibitory effect of polysaccharide peptide (PSP) against tobacco mosaic virus (TMV). International Journal of Biological Macromolecules, 75: 474-478.

DOI: <http://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.01.058>

ZHAO, L., C. H. FENG, K. WU, W. CHEN, Y. CHEN, X. HAO and Y. WU, 2016. Advances and prospects in biogenic substances against plant virus: a review. Pesticide Biochemistry and Physiology, 135: 15-26.

DOI: <http://doi.org/10.1016/j.pestbp.2016.07.003>