

تولد یک قاتل خاموش

در صنعت تولید شاهدانه

نگار ناظمی، دانشجوی کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی، دانشگاه تهران
Negar.Nazemi1378@gmail.com

دریافت: ۱۱ بهمن ۱۴۰۴ ■ بازنگری: ۲۹ بهمن ۱۴۰۴ ■ پذیرش: ۳۰ بهمن ۱۴۰۴ ■ انتشار آنلاین: ۲۷ اردیبهشت ۱۴۰۵

<https://doi.org/10.22059/gjahpzshsj.2026.410327.1050>



چکیده

Hop latent viroid (HLVd) یا ویروئید نهفته رازک، یکی از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زای نوظهور در کشت‌های تجاری شاهدانه (*Cannabis sativa L.*) است که طی سال‌های اخیر، خسارات اقتصادی قابل توجهی در گلخانه‌ها و مزارع کشت شاهدانه، به همراه داشته است. در واقع می‌توان گفت که این ویروئید، بزرگ‌ترین تهدید برای پرورش دهندگان شاهدانه در سراسر جهان است. این ویروئید کوچک‌ترین عامل بیماری‌زای شناخته‌شده در گیاهان بوده و متعلق به خانواده Pospiviroidae و عامل ایجادکننده Dudding disease یا ساقه شکننده، در شاهدانه است. عمدتاً از طریق تکثیر رویشی، ابزارهای آلوده و تماس مکانیکی منتقل می‌شود و با ایجاد اختلال در مسیرهای متابولیکی، کاهش تریکوم و کاهش ترکیبات فعال (کانابینوئیدها و ترپن‌ها)، سبب افت شدید عملکرد گیاه می‌شود. از نظر تاریخی، این بیماری در شاهدانه، در سال ۲۰۱۹ از کالیفرنیا، گزارش گردید. در سال‌های اخیر ویروئید نهفته رازک (HLVd) به همراه نشانه‌های بارزی در شاهدانه گزارش شده است. بررسی بر روی ۲۰۰,۰۰۰ نمونه شاهدانه، آلودگی ۹۰ درصد آن‌ها به این ویروئید را تأیید کرد؛ بنابراین خسارات بالقوه تخمین زده شده به ۴ میلیارد دلار در سال، تنها در ایالات متحده آمریکا رسید. ویروئید نهفته رازک (HLVd) با ایجاد نشانه‌های شدید در شاهدانه، تولید دانه و فیبر را در گونه‌های صنعتی و محتوای کانابینوئید در گونه‌های دارویی، مختل می‌کند. همچنین باعث کاهش ۵۰ تا ۷۰ درصدی محتوای Tetrahydrocannabinol (THC) می‌شود. لازم به ذکر است که تا به حال، گزارشی از آلودگی شاهدانه به این ویروئید از ایران ارائه نشده است.

واژگان کلیدی: شاهدانه، HLVd، THC، Dudding disease، کانابینوئید



مقدمه

رابطه دلیل ایجاد شکنندگی در ساقه‌ها گزارش کرده‌اند. گیاهان آلوده، اغلب می‌توانند در طول یک دوره رشد، بدون نشانه باشند و سپس نشانه‌هایی مانند زردی و بدشکلی برگ‌ها و همچنین کاهش رشد، ایجاد کنند. در طول گلدهی نیز، گیاهان آلوده به HLVd، کاهش سطح متابولیت‌های ارزشمند را، نشان می‌دهند (Atallah et al., ۲۰۲۳). بر اثر آلودگی گیاهان شاهدانه به این ویروئید، سطح متابولیت‌های ثانویه این گیاه مانند فلاونوئیدها، تتراهیدروکانابینول (THC) و ترپین‌ها، می‌تواند به شدت نوسان داشته باشد که این موضوع بر مقدار و ارزش کل عملکرد این گیاه، تأثیر منفی می‌گذارد. زیان‌های وارده به صنعت شاهدانه، سالانه حدود چهار میلیارد دلار در ایالات متحده آمریکا برآورد شده است که نشان می‌دهد این ویروئید بسیار خطرناک و خسارت‌زا است (Adkar et al., ۲۰۲۳). ویروئید نهفته رازک (HLVd)، با ایجاد نشانه‌هایی شدید در شاهدانه، تولید دانه و فیبر را در گونه‌های صنعتی و محتوای کانابینوئید در گونه‌های دارویی، مختل می‌کند. همچنین باعث کاهش ۵۰ تا ۷۰ درصدی محتوای Tetrahydrocannabinol (THC) می‌شود Warren et al., ۲۰۱۹). (تابه حال، گزارشی از آلودگی شاهدانه به این ویروئید از ایران، ارائه نشده است.

شاهدانه (*Cannabis sativa* L.)، یکی از نخستین گیاهانی است که برای هزاران سال در اروپا، آسیا، آفریقا و آمریکا به عنوان منبع تأمین الیاف، دانه و روغن و همچنین دارو، کشت شده است (Salami et al., ۲۰۲۰). ویروئیدها، RNAهای حلقوی بیماری‌زا هستند که گیاهان را آلوده می‌کنند و معمولاً همانند ویروئید اگزوکورتیس مرکبات یا *Citrus exocortis viroid* (CEVd) دارای دامنه میزبانی وسیع و از جمله عوامل بیماری‌زای گیاهی با اهمیت اقتصادی برای گونه‌های متعددی از گیاهان علفی و چوبی به شمار می‌روند (Ortola & Daros, ۲۰۲۳). معمولاً بسیار مسری هستند و می‌توانند به صورت مکانیکی توسط ابزارهای کشاورزی، حشرات، گرده‌ها، دانه‌ها، گیاهان انگلی، پیوند شاخه و ریشه و بیمارگرهای گیاهی قارچی منتقل شوند (Adkar et al., ۲۰۲۳). ویروئید کوتولگی رازک، از خانواده *Pospiviroidae*، برای اولین بار از گیاه رازک، در اسپانیا، توسط پالاس و همکاران (۱۹۸۷) جدا شد (Pallas et al., ۱۹۸۷). اغلب باعث ایجاد نشانه‌های قابل مشاهده در گیاهان نمی‌گردد، به همین دلیل، آن را، ویروئید پنهان می‌نامند (Štajner et al., 2019). یک تهدید بزرگ برای صنعت تولید شاهدانه است و عامل ایجادکننده *Dudding disease* یا ساقه شکننده، است. اخیراً کشاورزان خسارات اقتصادی ویرانگری

معرفی ویروئیدها

ویروئیدها، کوچک ترین عوامل عفونت زای شناخته شده تا به امروز هستند که عمدتاً در گیاهان، ایجاد بیماری می کنند. اصطلاح ویروئید توسط Theodor Diener در سال ۱۹۷۱ برای توصیف یک مولکول RNA بیماری زای کوچک بدون پروتئین و با وزن مولکولی کم، پیشنهاد گردید که ۵۰ تا ۸۰ برابر کوچک تر از کوچک ترین ژنوم ویروسی تا آن زمان بود (Diener, ۱۹۷۱). مکانیسم های سلولی زمینه ساز بیماری هنوز به خوبی مورد بررسی قرار نگرفته اند. اگر چه چندین مطالعه نشان می دهند که RNA های ویروئیدی ممکن است به mRNA ها یا پروتئین های میزبان متصل شوند و عملکرد آن ها را مختل کنند (Cottilli et al., ۲۰۱۹). ویروئید غده دوکی سیب زمینی یا (PSTVd) Potato spindle tuber viroid، اولین گونه ای بود که از سیب زمینی ایرلندی در آمریکای شمالی جدا شد (Diener, ۱۹۷۱).

وجود ویروئیدها با کشف بعدی گیاهان مرکباتی که بیماری اگزوکورتیس مرکبات را نشان می دادند، بیشتر از قبل مورد تأیید قرار گرفت. از آن زمان بیش از ۵۰ RNA شبه ویروئید از گیاهان میزبان مختلف از جمله تک و دولپه ای جدا شد. پیشرفت ها در فناوری تشخیص بیماری زای گیاهی ویروئیدهای جدید و توزیع آن ها در مناطق جغرافیایی جدید به طور مداوم گزارش می شود. نشانه های بیماری ویروئیدی در گیاه میزبان تا حد زیادی به هر طبقه بندی شده اند (Adkar et al., ۲۰۱۵).

مشابه بیمارگرهای ویروسی، ویروئیدها وارد سلول می شوند و برای عفونت زایی موفق، به عوامل و آنزیم های میزبان وابسته هستند و تکثیر ویروئیدها در هسته یا در کلروپلاست صورت می گیرد که این موضوع نیز به تعیین طبقه بندی آن ها در خانواده های Pospiviroidae و Avsunviroidae به ترتیب کمک می کند (Flores et al., ۲۰۰۴). پنج گونه در خانواده Avsunviroidae وجود دارد که از طریق مکانیسم دایره غلطان متقارن در کلروپلاست تکثیر می شوند و ۳۹



گونه دیگر در خانواده Pospiviroidae گروه بندی می شوند که تکثیر آن ها از طریق دایره غلطان نامتقارن است (Chiumenti et al, ۲۰۲۱).

:: ویروئید پنهان رازک

ویروئید پنهان رازک، متعلق به جنس Cocaviroid و خانواده Pospiviroidae است که در سال ۱۹۸۷ پالاس و همکاران بر روی دو گونه از سه گونه تجاری رازک (*Humulus lupulus* L.) از خانواده Canabaceae، از اسپانیا گزارش کردند. اگرچه ژنوم این ویروئید به اندازه ویروئید لکه آفتابی آواکادو یا Avocado Sunblotch Viroid (ASBVd) بود، اما خواص فیزیکی و زیستی آن با ویروئیدهایی که قبلاً مشخص شده بودند، متفاوت بود (Pallas et al, ۲۰۲۳).

ویژگی	فاکتور مورد نظر
مبله ای	ساختار ویروئید
دارد	Central conserved region (CCR)
دارد	منطقه مرکزی محافظت شده
ندارد	Terminal conserved hairpin (TCH)
ندارد	ساختار سنجاق سری
هسته	Self-cleaving activity (i.e., ribozyme)
دایره غلطان نامتقارن	فعالیت خودبرشی
	مکان تکثیر در میزبان
	نوع همانندسازی
	آنزیم مداخله گر در همانندسازی
	DNA – dependents RNA polymerase II

جدول ۱- ویژگی های ویروئید پنهان رازک (HLVd) (Adkar et al, 2023)



Mock-inoculated



HLVd-inoculated

شکل ۱- نشانه های بدشکلی برگ ها و زردی رگبرگ ها ناشی از ویروئید نهفته رازک بر روی رازک ژاپنی (Adkar et al, 2023).

داملنه میزبانی ونحوه انتقال ویروئید پنهان رازک

تا اواسط سال ۲۰۱۹ سه میزبان طبیعی رازک تجاری (*Humulus lupulus*) و رازک ژاپنی (*humulus japonicus*) و گزنه (*Urtica dioica L.*), به عنوان میزبان های ویروئید پنهان رازک، شناخته شدند. در سال ۲۰۱۹ دو گروه مستقل ویروئید پنهان رازک از میزبان شاهدانه (*Cannabis sativa*) در ایالات متحده ای آمریکا گزارش شدند (Pethybridge, ۲۰۰۸). طبق تحقیقاتی که در سال های اخیر صورت گرفته است، خیار (*Cucumis sativus*), گوجه فرنگی (*Solanum lycopersicum*), گل داوودی (*Chrysanthemum morifolium*), توتون (*Nicotiana benthamiana*) و گیاه گوش موشی (*Arabidopsis thaliana*) هم از میزبانان شناخته شده ای این ویروئید هستند (Atallah et al, ۲۰۲۳).

طبق گزارش ها، این ویروئید با بذر منتقل نمی شود و به صورت خیلی کم با گرده منتقل می شود. همچنین تا به امروز گزارشی از انتقال این ویروئید با ناقل وجود ندارد (Bektaş et al, ۲۰۱۹).

ویروئید پنهان رازک بر روی شاهدانه

اگرچه آسیب ناشی از این ویروئید در گیاه شاهدانه مشهود است، اما نشانه های مرتبط می تواند بسته به واریته، مبهم باشد و اغلب تا زمانی که توسط محرک های محیطی یا عوامل استرس زا تحریک نشود، مشاهده نشود. به عنوان مثال، گذر به یک دوره نوری گل دهی می تواند یک سری نشانه های را القا کند که منجر به آسیب شناسی مشخص این ویروئید می شود و این بیماری در شاهدانه، به عنوان بیماری dud یا duding disease شناخته می شود (Bektaş et al, ۲۰۱۹). این وضعیت در ساختارهای مختلف گیاهی از جمله ساقه ها، برگ ها و گل ها

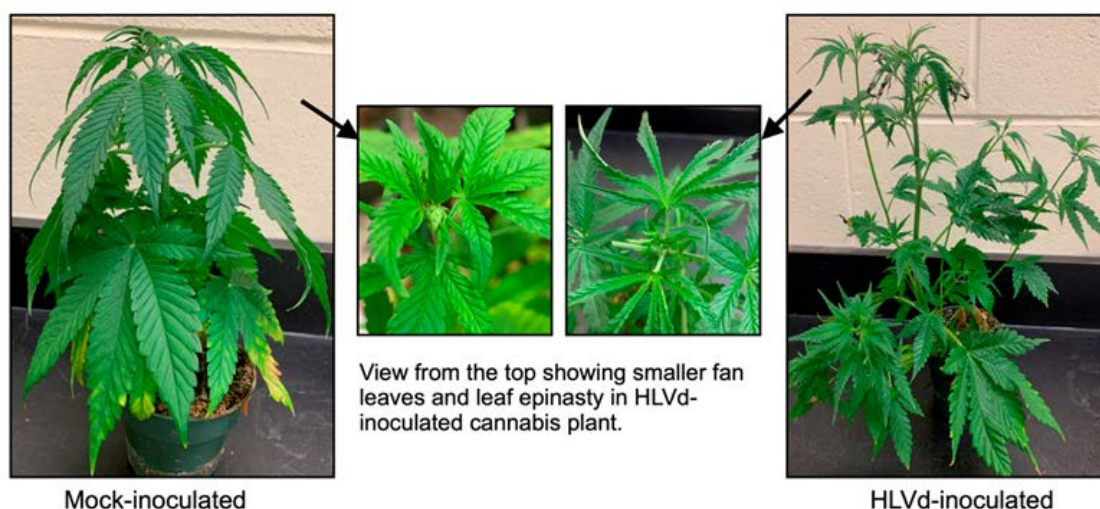
ویروئید پنهان رازک، به صورت مکانیکی از طریق پیوند و با ابزار یا ماشین آلات آلوده منتقل می شود.



و شدت بیماری به ژنوتیپ میزبان بستگی دارد. در ارقام حساس شاهدانه، نشانه‌هایی مانند کاهش فاصله میان‌گره، برگ‌های کوچک‌تر، کوتولگی، بدشکلی بوته، کلروز، شکنندگی ساقه، کاهش توده گل و کاهش تریکوم مشاهده می‌شود (Bektaş et al., ۲۰۱۹). در سال ۲۰۲۱، بررسی بر روی ۲۰۰,۰۰۰ نمونه شاهدانه آلودگی ۹۰ درصد از آن‌ها به این

دیده می‌شود و با کاهش قابل توجه در عملکرد و تولید متابولیت‌های ثانویه همراه است (Foust, ۲۰۲۳).

ویروئید نهفته رازک (HLVd)، تهدید قابل توجهی برای کشت شاهدانه است و بر عملکرد و کیفیت گیاه شاهدانه تأثیر می‌گذارد (Torres et al., ۲۰۲۴).



شکل ۲- نشانه‌های ویروئید نهفته رازک بر روی شاهدانه (Adkar et al., 2023)

ویروئید را تأیید کرد؛ بنابراین خسارت بالقوه تنها در ایالات متحده آمریکا نزدیک به چهار میلیارد دلار در سال تخمین زده شد. اکنون در مناطق کشت شاهدانه در کانادا، این ویروئید گسترش یافته است (Adkar et al., ۲۰۲۳). در شکل دو، نشانه‌های ویروئید نهفته‌ی رازک بر روی شاهدانه را مشاهده می‌کنید که در سمت راست، گیاه سالم و در سمت چپ، گیاه آلوده به این ویروئید قابل مشاهده است.

این وضعیت در ساختارهای مختلف گیاهی از جمله ساقه‌ها، برگ‌ها و گل‌ها دیده می‌شود و با کاهش قابل توجه در عملکرد و تولید متابولیت‌های ثانویه همراه است و این بیماری در شاهدانه، به عنوان بیماری dud یا duding disease شناخته می‌شود (Adkar et al., ۲۰۲۳). در شاهدانه همانند رازک، فقط ارقام خاصی نشانه‌های مرتبط با HLVd را نشان می‌دهند که بیانگر این است که نشانه‌ها

متابولیت‌های گیاه شاهدانه

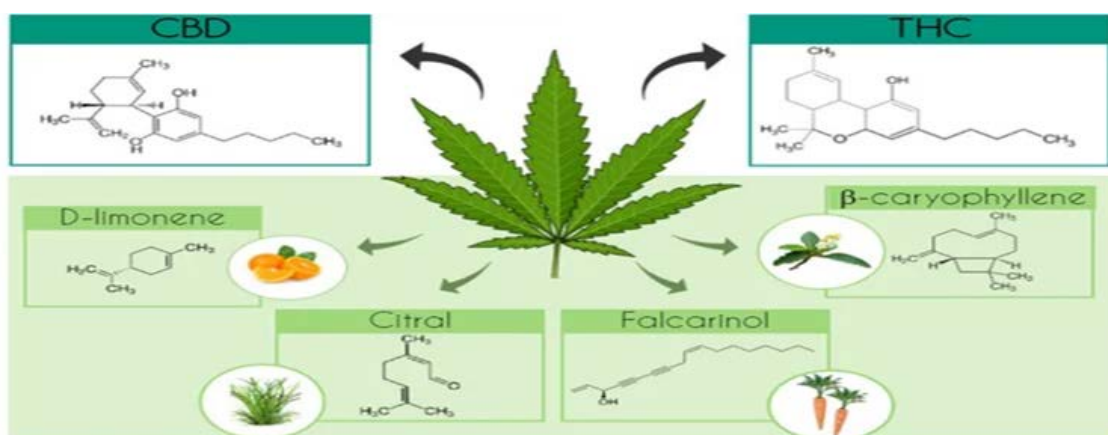
گیاه شاهدانه متابولیت‌های اولیه و ثانویه‌ای را تولید می‌کند که وظایف متعددی دارند. متابولیت‌های اولیه شامل قندهای ساده، اسیدهای آمینه، لیپیدها و اسیدهای نوکلئیک هستند. در واقع ترکیباتی اند که برای فرایندهای سلولی لازم هستند. متابولیت‌های ثانویه مواد شیمیایی تولید شده به وسیله گیاه هستند که برای آن‌ها هیچ نقشی تاکنون در رشد، فتوسنتز، تولیدمثل و دیگر فعالیت‌های اولیه پیدا نشده است. این ترکیبات در پاسخ به استرس، مانند عواملی که به عنوان بازدارنده در برابر علف‌خواران تولید می‌شوند، فعالیت می‌کنند (Keeling & Bohlmann, 2006). در گیاهان راه‌های متابولیکی زیادی برای تولید متابولیت‌های اولیه وجود دارد که در حیوانات دیده نمی‌شود. تفاوت دیگر در راه‌های متابولیکی گیاهان و حیوانات، گیاهان حاوی راه‌های متابولیکی متنوعی هستند که از راه‌های تولید متابولیت‌های اولیه منشعب می‌شوند و منجر به تولید ترکیباتی می‌شود که موجود برای ادامه حیات نیازی به آن‌ها ندارد. مجموعه این راه‌های متابولیکی حاشیه‌ای را متابولیسم ثانویه می‌نامند. فرآورده‌هایی که از این راه‌های متابولیسمی حاشیه‌ای منشأ می‌گیرند را متابولیت ثانویه می‌نامند. (Nelson & Cox, 2004)

متابولیت‌های ثانویه وظایف متعددی دارند:

از جمله نقش استحکامی (لیگنین)، محافظتی فیتوالکسین‌ها، دارویی (کدئین)، گرده‌افشانی، تولید رنگ (کارتنوئیدها)، مواد اولیه صنایع شیمیایی (صمغ‌ها، رزین‌ها و کائوچو) و نقش اللوپاتی (جاگلون) (Cheng et al, 2007).

گیاهان دارویی، به دلیل دارا بودن متابولیت‌های ثانویه‌ای همانند آلكالوئیدها، گلوکوزیدها، اسانس‌ها، تانن‌ها از اهمیت خاص و ویژه‌ای برخوردار هستند. گل‌های شاهدانه به دلیل وجود ترکیباتی مانند کانابینوئیدها، از جمله تتراهیدروکانابینول (THC) و کانابیدیول (CBD)، همواره مورد توجه قرار گرفته‌اند. THC تأثیرات روان‌گردان دارد، در حالی که CBD به دلیل خواص درمانی متنوعی که دارد، در سال‌های اخیر توجه بسیاری را به خود جلب کرده است. شاهدانه حاوی طیف وسیعی از ترکیبات شیمیایی از جمله کانابینوئیدها، ترپن‌ها، فلاونوئیدها و اسیدهای چرب است (احمدی لاله مرزی و همکاران، 1403). شاهدانه، به دلیل دارا بودن کانابینوئیدهای مختلف (CBG, CNB, CBD, CBC, THC) مورد توجه است (بابایی و سلامی، 1395).

شاهدانه حاوی تقریباً ۵۴۰ ترکیب طبیعی است که به دلیل ساختار شیمیایی مشترک آن‌ها به عنوان فیتوکانابینوئیدها شناخته شده‌اند. این گیاه علفی یک‌ساله، طیف گسترده‌ای از متابولیت‌های ثانویه را تولید می‌کند که در این میان tetrahydrocannabinol (THC- Δ^9) و کانابیدیول (CBD) از مهم‌ترین آن‌ها



شکل ۲- نشانه‌های ویروئید نهفته رازک بر روی شاهدانه (Adkar et al., 2023)

است که خواص درمانی Δ^9 -THC و CBD شامل توانایی عمل به‌عنوان مسکن، ضد استفراغ، عوامل ضد التهاب، ترکیبات ضد تشنج و به‌عنوان عوامل محافظ در تخریب عصبی است (Mishra et al., 2018). وجود اسیدهای چرب چند غیر اشباع، به‌ویژه امگا ۳، در دانه‌های شاهدانه باعث شده است تا این گیاه به‌عنوان یک منبع غذایی ارزشمند مورد استفاده قرار گیرد. همچنین ترکیبات فنولی موجود در شاهدانه خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی داشته و در پیشگیری برخی از بیماری‌ها مانند بیماری‌های قلبی و عروقی و سرطان مؤثر هستند. در برخی کشورها روغن‌های غنی شده با CBD و عصاره گل‌های خشک شاهدانه برای درمان طیف وسیعی از بیماری‌ها از جمله درد، التهاب، صرع و اختلالات اضطرابی مورد استفاده قرار می‌گیرند (احمدی لاله مرزی و همکاران، ۱۴۰۳). در شکل سه، مهم‌ترین متابولیت‌های ثانویه در گیاه شاهدانه قابل مشاهده است. (Gonçalves et al., 2020).

:: تأثیر ویروئید پنهان رازک بر روی محتوای تریپن و روغن‌های ضروری

علی‌رغم عدم وجود و مشاهده‌ی هرگونه نشانه‌های مشخص در بافت‌های سوماتیک به‌جز در ارقام و شرایط خاص، HLVd باعث ایجاد تغییرات فیزیولوژیکی می‌شود که هم از نظر کیفی و هم از نظر کمی بر متابولیت‌های غدد ترشحی لوپولین و روغن‌های ضروری تأثیر می‌گذارد، بنابراین نشان می‌دهد که HLVd، واقعاً پنهان نیست (Matoušek et al., 2001). در گیاهان آلوده‌ی شاهدانه به HLVd، این کاهش عملکرد می‌تواند برای رقم Wye Challenger به حداقل ۸ درصد و برای رقم Slovenian به حداکثر ۳۷/۵ درصد برسد (Patzak et al., 2021). کاهش اسید- α -تلخ (آلفا هیدروکسی اسید)، برای ارقام Wye Challenger و Omega به ترتیب ۱۵ درصد

و ۳۰ درصد بود. هر دورقم افزایش اسید β -تلخ (بتا - هیدروکسی بوتیریک اسید) و محتوای روغن رانیز نشان دادند (Matoušek et al., ۲۰۰۱). مقدار بالاتر اسید β -تلخ و محتوای روغن منجر به بلوغ زودرس مخروط‌های رازک می‌شود. (Barbara et al., ۱۹۹۰) تأثیر HLVd بر محتوای اسید α -تلخ وابسته به ژنوتیپ بوده و این کاهش در اسیدهای تلخ آلفا در ارقام رازک انگلیسی از ۲۰ درصد تا ۵۰ درصد متغیر بود (Adams et al., ۱۹۹۲). سایر ارقام رازک در جمهوری چک نیز کاهش قابل توجهی در محتوای اسید تلخ آلفا در گیاهان آلوده به HLVd نشان دادند؛ به‌عنوان مثال Saaz، ۴۰ درصد کاهش؛ Premiant، ۳۰ درصد کاهش؛ Aurora، ۱۸ درصد کاهش؛ و Sybilla، Marynka، Pulawski، Magnat و Patzak از ۱۱ درصد تا ۲۳ درصد کاهش رانشان دادند (Patzak et al., ۲۰۲۱). همچنین مشخص شده است که HLVd هم بر روغن‌هایی ضروری و هم بر محتوای ترپن‌های رازک تأثیر می‌گذارد. به‌عنوان مثال در تحقیقاتی که انجام شد، HLVd سطح مونوترپن‌هایی مانند میرسن و هم α - و β -پینن را در مقایسه با گیاهان سالم، ۲۹ درصد تا ۴۱/۶ درصد افزایش داد (Patzak et al., ۲۰۰۱)؛ اما برخلاف مونوترپن‌ها، HLVd سطح سزکوئی‌ترین‌هایی مانند β -کاریوفیلن، α -هومولن، α -کوپن، γ -مورولن، β -بیزابولن، γ -کادینن و δ -کادینن را ۱۳ تا ۲۹ درصد کاهش داد. فرض بر این است که تأثیر احتمالی برخی از فرایندهای

کاهش اکسیداتیو که توسط ویروئید فعال می‌شوند، در تجمع الکل‌های ترپن مانند ژرانیول و متیل ژرانات و همچنین در کاهش سطح اکثر کتون‌های شناسایی‌شده در طیف روغن‌های ضروری دخیل هستند (Kovačević & Kač, ۲۰۰۲). با این حال این تغییرات در ترکیب روغن‌های ضروری موجود در مخروط‌های رازک هم وابسته به ژنوتیپ و هم مختص رقم هستند. برای مثال، مشخص شد که محتوای لینالول در مخروط‌های گیاهان آلوده برای ارقام Sybilla، Lubelski و Pulawski بیشتر، اما برای ارقام Marynka و Magnat کمتر است. محتوای متیل‌گرنات در گیاهان آلوده از همه ارقام کمتر بود (Patzak et al., ۲۰۰۱). از نظر اهمیت آلودگی HLVd رازک با اهمیت اقتصادی، حتی کوچک‌ترین تفاوت در محتوا یا ترکیب در اسید تلخ α ، اسید تلخ β ، محتوای روغن و ترپن، می‌تواند عطر آجو حاصل را تغییر دهد (Pethybridge et al., ۲۰۰۸).

:: شناسایی و مدیریت ویروئید پنهان رازک

اساس کنترل ویروئید، تولید مواد تکثیرری عاری از ویروئید است. چندین اقدام کنترلی در این زمینه وجود دارد. اولین و مهم‌ترین آن‌ها، پیشگیری است که با آزمایش تمام گیاهان شاهدهانه و محصولات شاهدهانه وارداتی که می‌توانند به‌عنوان حامل HLVd عمل کنند، انجام می‌شود. از این رو، آزمایش گیاهان و محصولات، برای آلودگی‌های احتمالی HLVd،



روش خوبی است. پس از دریافت گیاهان، قرنطینه ۳۰ روزه برای ارزیابی صحیح وجود عوامل بیماری‌زای گیاهی در مواد گیاهی ورودی بسیار مهم است. با توجه به اینکه HLVD، در بسیاری از ارقام شاهدهانه بدون علامت است، توصیه می‌شود هر گیاه جدید در طول هفته سوم قرنطینه و مطمئناً قبل از ارسال گیاهان تازه دریافت شده به مرحله تولید، آزمایش شود (Adkar et al, ۲۰۲۳). اگرچه هیچ درمان شیمیایی برای کنترل HLVD در دسترس نیست، اما روش‌هایی مانند کشت نوک مریستم، گرمادرمانی و درمان با سرما، به‌طور قابل توجهی غلظت ویروئید را کاهش می‌دهند (Grudzinska & Solaraska, ۲۰۰۴; Svoboda et al, ۱۹۹۵; Morton et al, ۱۹۹۳). همچنین در پژوهشی، کشت مریستم نوک شاخه با موفقیت HLVD را از دورقم رازک آلوده حذف کرد (Hataya et al, ۱۹۹۲). با این حال، ترکیب تیمار سرما شامل انکوباسیون مواد گیاهی در دمای ۲ تا ۴ درجه سانتی‌گراد در تاریکی برای دوره‌های مختلف از ۸ تا ۲۱ ماه و کشت مریستم نوک شاخه‌های با اندازه کمتر از ۵/۰ میلی‌متر در حذف HLVD مؤثرتر بود (Morton et al, ۱۹۹۳).

گرمادرمانی شامل انکوباسیون گیاهان در دمای ۳۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۴ روز به سرعت غلظت ویروئید را کاهش داد، در حالی که تیتراصلی پس از شش ماه در شرایط مزرعه بازایی شد. کاهش غلظت HLVD با القای مکانیسم خاموشی RNA که منجر به تجزیه RNA ویروئید شد، مرتبط بود. برخلاف سایر گونه‌های ویروئیدی، HLVD به تولید سطوح ناچیزی از گونه‌های جهش‌یافته در شرایط کشت استاندارد معروف است. با این حال، گرمادرمانی منجر به افزایش قابل توجه تعداد واریانتهای توالی شناسایی شده در جمعیت HLVD شد (Matousek et al, ۱۹۹۵).

در درجه اول، HLVD، از طریق قلمه‌های رویشی، ابزارهای آلوده و سایر وسایل مکانیکی در داخل مزارع رازک یا تأسیسات کشت کانابیس داخلی گسترش می‌یابد. از آنجایی که هیچ اقدام کنترلی برای بیماری‌های مرتبط با ویروئید در دسترس نیست، گسترش HLVD تنها با استفاده از یک سیستم مدیریت چندلایه که شامل شناسایی و حذف به موقع گیاهان آلوده می‌شود، اما محدود به آن‌ها نیست، قابل پیشگیری است. عدم وجود نشانه‌های قابل مشاهده مرتبط با HLVD، توانایی پرورش دهندگان را در مهار این ویروئیدها به چالش می‌کشد. شاخص گذاری زیستی برای HLVD به دلیل دامنه میزبانی محدود و عدم وجود نشانه‌های عملی نیست. با توجه به این مشکلات و به دلیل روش پرزحمت شاخص گذاری زیستی، می‌توان از روش‌های تشخیص مولکولی مانند هیبریداسیون نقطه‌ای، RT-PCR و qPCR برای تشخیص روتین استفاده کرد. از آنجایی که توزیع ویروئید در گیاه میزبان یکسان نیست، گرفتن نمونه‌های متعدد

برگ از ساقه پایینی تا بالایی که برگ‌های قدیمی و جدید را پوشش دهد، مهم است. اگر چه کاشت مجدد جزئی پس از حذف گیاهان بیمار و مجاور می‌تواند مؤثر باشد، اما کنترل بهتر با حذف تمام گیاهان آلوده و به دنبال آن کاشت مجدد با ابزار عاری از ویروئید تأیید شده، حاصل شده است (Adkar et al, ۲۰۲۳).

برای از بین بردن رازک‌های آلوده به ویروئید، لازم بود که تمام گیاهان، از جمله ریزوم‌ها، با تیمار اوره و کلروپیکرین در پاییز از بین بروند تا اطمینان حاصل شود که بیماری به محصول بعدی منتقل نمی‌شود. با این حال، در مورد کانابیس (که بیشتر در فضای بسته کشت می‌شود)، انهدام گیاهان آلوده می‌تواند به طور مؤثری از گسترش HLVD در محیط جلوگیری کند (Pethybridge et al, ۲۰۰۸).

HLVD می‌تواند در گل‌شاهدانه، در صورتی که در دمای پایین‌تر از دمای اتاق نگهداری شوند، مدت بیشتری زنده بماند. این نشان‌دهنده احتمال انتقال HLVD از طریق محصولات شاهدانه است که یا بین تولیدکنندگان منتقل می‌شوند یا در بازار خریداری می‌شوند (Pethybridge et al, ۲۰۰۸).

حذف گیاهان آلوده به ویروئید و ضد عفونی ابزارها و محیط اطراف گیاهان آلوده به ویروئید، برای بررسی شیوع ویروئید در مزارع و گلخانه‌ها، بسیار مهم است (Pethybridge et al, ۲۰۰۸). در میان روش‌های مختلف حرارتی و شیمیایی که برای ضد عفونی ابزار در برابر ویروئیدها آزمایش شده‌اند، قابل اعتمادترین و پرکاربردترین آن‌ها محلول آبی حداقل پنج درصد سفیدکننده خانگی (هیپوکلریت سدیم، حداقل یک درصد کلر) است (Lavagi et al, ۲۰۱۷). با این حال، مشخص شد که ضد عفونی کردن ابزار گلخانه با سفیدکننده معمولی کلوروکس، ماده مؤثره پنج درصد هیپوکلریت سدیم (NAOCl) به مدت ۱۰ ثانیه در برابر انتقال PSTVd در گوجه‌فرنگی، مؤثر است (Shahid et al, ۲۰۰۹). اثر خوردگی قوی بر روی ساختار گلخانه و ابزار و اثر بالقوه فیتوتوکسیک بر روی گیاهان، باید قبل از استفاده از سفیدکننده به عنوان ضد عفونی‌کننده در نظر گرفته شود. جایگزین دیگر، ویرکون اس (Virkon S) است که قبلاً در برابر عوامل بیماری‌زای ویروسی انسانی و حیوانی مؤثر بوده است (Zou et al, ۲۰۱۳). اگرچه نسبتاً گران و خورنده است، اما وقتی با غلظت دو درصد (بیست گرم در لیتر) استفاده شود، امیدوارکننده‌ترین ضد عفونی‌کننده علیه ویروئیدها و ویروس‌های آلوده‌کننده گوجه‌فرنگی‌های گلخانه‌ای است (Zou et al, ۲۰۱۳). علاوه بر روش‌های آزمایشی و بهداشتی، حفظ استانداردهای بالای کشت و همچنین رعایت بهداشت کارگران و ضد عفونی منظم ابزارآلات، بسیار مهم است (Adkar et al, ۲۰۲۳).



نتیجه‌گیری

داده‌های علمی در مورد اثرات منفی HLVd بر محتوای اسید تلخ و ترپن‌ها در گیاهان دارای نشانه و بدون نشانه، توجه محققان را جلب کرده است. عدم وجود نشانه‌های قابل مشاهده مرتبط با HLVd، توانایی پرورش دهندگان شاهدانه را در مهار این ویروئیدها به چالش می‌کشد. تا به امروز گونه‌های مقاوم گیاه شاهدانه در برابر HLVd، شناسایی نشده است. کشت مریستم تنها روش مؤثر کنترلی است که از طریق آن می‌توان گیاهان آلوده را نجات داد. این فرآیند هم پرزحمت و هم پرهزینه است. اگرچه گیاهچه‌های کشت شده، عاری از ویروئید هستند، اما مقاوم به ویروئید، نیستند؛ بنابراین، رعایت اقدامات پیشگیرانه برای جلوگیری از شیوع HLVd در یک محیط رشد مشخص، در مدیریت بیماری‌های مرتبط، ضروری است.

منابع

- احمدی‌لله مرزی، ز؛ واندی، ع؛ و خسروی، ش.، ۱۴۰۳، کاربرد گیاه شاهدانه (*Cannabis sativa L*). در دامپزشکی، دومین کنفرانس ملی دامپزشکی، آمل، <https://civilica.com/doc/2123723>.
- بابائی، م؛ و سلامی، ع. ۱۳۹۵، روش‌های آنالیز و سنجش کانابینوئیدها در شاهدانه، چهارمین همایش ملی، انجمن علمی کشاورزی، منابع طبیعی و محیط زیست، کرج، <https://civilica.com/doc/518517>
- Adams, A. N., Morton, A., Barbara, D. J., & Ridout, M. S. (1992). The distribution and spread of hop latent viroid within two commercial plantings of hop (*Humulus lupulus*). *Annals of applied biology*, 592-585, (3)121.
- Adkar-Purushothama, C. R., Brosseau, C., Giguère, T., Sano, T., Moffett, P., & Perreault, J. P. (2015). Small RNA Derived from the Virulence Modulating Region of the Potato spindle tuber viroid Silences callose synthase Genes of Tomato Plants. *The Plant cell*, 2194-2178, (8)27. <https://doi.org/10.1105/tpc.15.00523>
- Adkar-Purushothama, C. R., Sano, T., & Perreault, J.-P. (2023). Hop Latent Viroid: A Hidden Threat to the Cannabis Industry. *Viruses*, 681, (3)15. <https://doi.org/10.3390/v15030681>
- Atallah, O. O., Yassin, S. M., & Verchot, J. (2023). New Insights into Hop Latent Viroid Detection, Infectivity, Host Range, and Transmission. *Viruses*, 30, (1)16. <https://doi.org/10.3390/v16010030>
- Barbara, D. J., Morton, A., Adams, A. N., & P.

- Microbiology, 80-75 ,(1)1.
- Flores, R., Delgado, S., Gas, M. E., Carbonell, A., Molina, D., Gago, S., & De la Pena, M. (2004). Viroids: the minimal non-coding RNAs with autonomous replication. FEBS letters, ,(1)567 48-42.
- Grudzińska, M., & Solarska, E. (2004). The elimination of viruses and hop latent viroid from hop (*Humulus lupulus* L.) in Poland. In I International Humulus Symposium 668 (pp. 152-۱۴۹).
- Keeling, C. I., & Bohlmann, J. (2006). Genes, enzymes and chemicals of terpenoid diversity in the constitutive and induced defence of conifers against insects and pathogens. The New phytologist, 675-657 ,(4)170. <https://doi.org/10.1111/j.8137.2006.01716-1469.x>
- Kovačević, M., & Kač, M. (2002). Determination and verification of hop varieties by analysis of essential oils. Food Chemistry, 494-489 ,(4)77.
- Lavagi, I., Matoušek, J., & Vidalakis, G. (2017). Other cocadviroids. In Viroids and satellites (pp. 287-275). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B7-1.00026-801498-12-0-978>
- Love, M. I., Huber, W., & Anders, S. (2014). Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. Genome biology, 550 ,(12)15. <https://doi.org/10.1186/s8-0550-014-13059>
- Matoušek, J., Patzak, J., Orctová, L., Schubert, J., Vrba, L., Steger, G., & Riesner, D. (2001). The variability of hop latent viroid as induced upon heat treatment. Virology, 358-349 ,(2)287.
- Matousek, J., Trněná, L., Svoboda, P., Orniaková, P., & Lichtenstein, C. P. (1995). The gradual GREEN, C. (1990). Some effects of hop latent viroid on two cultivars of hop (*Humulus lupulus*) in the UK. Annals of applied biology, -359,(2)117 366.
- Bektaş, A., Hardwick, K. M., Waterman, K., & Kristof, J. (2019). Occurrence of hop latent viroid in *Cannabis sativa* with symptoms of cannabis stunting disease in California. Plant Disease, 2699,(10)103. DOI: 10.1094/PDIS-0459-19-03-PDN
- Cheng, A. X., Lou, Y. G., Mao, Y. B., Lu, S., Wang, L. J., & Chen, X. Y. (2007). Plant terpenoids: Biosynthesis and ecological functions. Journal of Integrative Plant Biology. <https://doi.org/10.1111/j.7909.2007.00395-1744.x>
- Chiumenti, M., Navarro, B., Candresse, T., Flores, R., & Di Serio, F. (2021). Reassessing species demarcation criteria in viroid taxonomy by pairwise identity matrices. Virus evolution, (1)7, veab001. <https://doi.org/10.1093/ve/veab001>
- Cottilli, P., Belda-Palazon, B., Adkar-Purushothama, C. R., Perreault, J. P., Schleiff, E., Rodrigo, I., & Lisón, P. (2019). Citrus exocortis viroid causes ribosomal stress in tomato plants. Nucleic acids research, 8661-8649 ,(16)47.
- Gonçalves, E. C. D., Baldasso, G. M., Bicca, M. A., Paes, R. S., Capasso, R., & Dutra, R. C. (2020). Terpenoids, Cannabimimetic Ligands, beyond the Cannabis Plant. Molecules, 1567 ,(7)25. <https://doi.org/10.3390/molecules25071567>
- Diener, T. O. (1971). Potato spindle tuber "virus": IV. A replicating, low molecular weight RNA. Virology, 428-411 ,(2)45.
- Diener, T. O. (2003). Discovering viroids—a personal perspective. Nature Reviews



- survival. *Virology journal*, 38 ,6. <https://doi.org/422-1743/10.1186X-38-6>
- Štajner, N., Radišek, S., Mishra, A. K., Nath, V. S., Matoušek, J., & Jakše, J. (2019). Evaluation of disease severity and global transcriptome response induced by citrus bark cracking viroid, hop latent viroid, and their co-infection in hop (*Humulus lupulus* L.). *International journal of molecular sciences*, 3154 ,(13)20.
- Svoboda, P., Oriniaková, P., & Lichtenstein, C. P. (1995). The gradual reduction of viroid levels in hop mericlones following heat therapy: A possible role for a nuclease degrading dsRNA. *Biol. Chem. Hoppe-Seyler*, 721-715 ,376
- Torres, A., Pauli, C., Sarmiento, C., Zalewski, & Gaudino, R. (2024). Differential Expression Analysis of *Cannabis sativa* response to thermotherapy of Hops Latent Viroid (HLVd) infection and clearance of the viroid in Tissue Culture Micropropagation. *Plant Biology*, doi: <https://doi.org/2024.04.06.588422/10.1101>
- Zou, S., Guo, J., Gao, R., Dong, L., Zhou, J., Zhang, Y., & Shu, Y. (2013). Inactivation of the novel avian influenza A (H7N9) virus under physical conditions or chemical agents treatment. *Virology journal*, 289 ,(1)10.
- reduction of viroid levels in hop mericlones following heat therapy: a possible role for a nuclease degrading dsRNA. *Biological chemistry Hoppe-Seyler*, 7-715,(12)376.<https://doi.org/10.1515/bchm3.1995.376.12.715>
- Mishra, A. K., Kumar, A., Mishra, D., Nath, V. S., Jakše, J., Kocábek, T., Killi, U. K., Morina, F., & Matoušek, J. (2018). Genome-wide transcriptomic analysis reveals insights into the response to citrus bark cracking viroid (CBCVd) in Hop (*Humulus lupulus*). *Viruses*, 570 ,(10)10. <https://doi.org/10.3390/v10100570>
- Nelson, D.L., & Cox, M.M.)2004.(Lehninger Principles of Biochemistry. W.H. Freeman, Fourth edition, pp. 460.-۴۵.
- Pethybridge, S. J., Hay, F. S., Barbara, D. J., Eastwell, K. C., & Wilson, C. R. (2008). Viruses and viroids infecting hop: Significance, epidemiology, and management. *Plant Disease*, 338-324 ,(3)92.
- Patzak, J., Hencychová, A., Krofta, K., Svoboda, P., & Malířová, I. (2021). The influence of hop latent viroid (HLVd) infection on gene expression and secondary metabolite contents in hop (*Humulus lupulus* L.) glandular trichomes. *Plants*, ,(11)10 2297.
- Patzak, J., Matoušek, J., Krofta, K., & Svoboda, P. (2001). Hop latent viroid (HLVd)-caused pathogenesis: effects of HLVd infection on lupulin composition of meristem culture-derived *Humulus lupulus*. *Biologia plantarum*, ,(4)44 585-579.
- Shahid, M. A., Abubakar, M., Hameed, S., & Hassan, S. (2009). Avian influenza virus (H5N1); effects of physico-chemical factors on its

The Birth of a Silent Killer in the Cannabis Production Industry

Abstract

Hop latent viroid (HLVd) is one of the most important emerging pathogens in commercial *Cannabis sativa* cultivation, which in recent years has caused significant economic losses in greenhouses and cannabis farms. In fact, it can be said that this viroid represents the greatest threat to cannabis growers worldwide. This viroid is the smallest known plant pathogen and belongs to the family Pospiviroidae, being the causative agent of Dudding disease, or brittle stem, in cannabis. It is primarily transmitted through vegetative propagation, contaminated tools, and mechanical contact, and by disrupting metabolic pathways, reducing trichomes, and decreasing active compounds (cannabinoids and terpenes), it leads to a severe reduction in plant yield. Historically, this disease in cannabis was first reported in 2019 from California. In recent years, HLVd has been reported in cannabis along with prominent symptoms. Examination of 200,000 cannabis samples confirmed that 90% of them were infected with this viroid; consequently, the estimated potential damage reached up to 4 billion dollars per year, solely in the United States. HLVd, by causing severe symptoms in cannabis, disrupts seed and fiber production in industrial strains and cannabinoid content in medicinal strains. It also leads to a 50 to 70 percent reduction in Tetrahydrocannabinol (THC) content. It is worth mentioning that so far, no reports of cannabis infection with this viroid have been documented in Iran.

Keywords: Cannabis, HLVd, THC, Dudding Disease, Cannabinoid