مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی
جلد چهاردهم، شماره سوم، مرداد ـ شهریور ۱۳۸۶
www.sid.ir
www.magiran.com/jasnr

بررسی امکان آلودگی، تعیین پراکنش و دامنه میزبانی ویروس کوتولگی پیسه‌ای بادنجان (EMDV) در استان‌های خراسان شمالی و رضوی

***مجید جعفری[۱]، بهروز جعفرپور[۲] و ماهرخ فلاحتی رستگار[۲]**

[۱]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه گیاهپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، [۲]استاد گروه گیاهپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: ۸٤/۹/۲۹ ؛ تاریخ پذیرش: ۸۵/۱۲/۲۱

چکیده

در این تحقیق امکان آلودگی به ویروس کوتولگی پیسه‌ای بادنجان در استان‌های خراسان شمالی و رضوی در سال ۱۳۸۳ مورد بررسی قرار گرفت. جهت تعیین دامنه میزبانی طبیعی ویروس در این دو استان، از مزارع گیاهان مختلف بویژه خانواده‌های سیب‌زمینی و کدوئیان در شهرستان‌های مشهد، نیشابور، تربت‌جام، جیم‌آباد، فریمان، سرخس، چناران، قوچان و بجنورد بازدیدهایی به‌عمل آمد. در شرایط مزرعه، از گیاهانی که دارای علائم کوتولگی، بد شکلی برگ و زردی رگبرگ بودند، نمونه‌گیری به‌عمل آمد و جهت انجام آزمون‌های سرولوژیکی مانند الایزا و نشت دوطرفه در آگار از آنتی‌سرم اختصاصی ویروس استفاده شد. راندمان انتقال مکانیکی و تعیین دامنه میزبانی ویروس نیز در شرایط گلخانه برروی ۱٦ گونه و واریته گیاهی بررسی شد. نتایج این تحقیق آلودگی قطعی را در استان‌های خراسان شمالی و رضوی به ویروس کوتولگی پیسه‌ای بادنجان مورد تأیید قرار می‌دهد و دامنه میزبانی طبیعی ویروس در استان خراسان شمالی محدود به بادنجان بود و در استان خراسان رضوی شامل گوجه فرنگی، بادنجان و سیب‌زمینی می‌شد. بیشترین آلودگی مربوط به شهرستان نیشابور بود و در شهرستان‌های سرخس و تربت جام در نمونه‌های جمع‌آوری شده آلودگی مشاهده نشد. نتایج آزمون سرولوژیک نشت دو طرفه در آگار برای جدایه‌های شناسایی شده ویروس از مناطق و میزبان‌های مختلف نشان داد که در استان‌های خراسان شمالی و رضوی احتمالاً تنها یک سروتیپ ویروس به‌طور فعال وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: ویروس کوتولگی پیسه‌ای بادنجان، شناسایی، پراکنش، دامنه میزبانی، سروتیپ

مقدمه

ویروس کوتولگی پیسه‌ای بادنجان[۱] (EMDV) متعلق به جنس *Nucleorhabdovirus*، خانواده *Rhabdoviridae* و راسته *Mononegavirales* می‌باشد که اولین بار در سال ۱۹٦۹، توسط مارتلی و روزو از ایتالیا شناسایی گردید (مارتلی و روزو، ۱۹۷۳). این ویروس تاکنون در بادنجان از کشورهای مراکش، تونس، الجزایر، ترکیه و اردن در گوجه فرنگی از مراکش، ایتالیا و نیجریه در ختمی چینی (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) از مراکش، جزایر قناری و یونان در پیچ امین‌الدوله

*- مسئول مکاتبه: majid2000jafari@yahoo.com

1- *Eggplant mottled dwarf virus*

Archive of SID
www.SID.ir

(*Lonicera sp.*) از تونس و افغانستان در تنباکو از ایتالیا و یونان در خیار از ایتالیا، یونان و بلغارستان در فلفل از ایتالیا و بلغارستان در سیب‌زمینی از ایران در خربزه از ایتالیا در خیار چنبر از ایران و در علف مار (*Capparis spinosa* L.)، میخک ژاپنی (*Pittosporum tobria* (Thunb) Ait.)، علف‌های هرز *Withania somnifera* Dun. و *Euphorbia geniculata* Ortega. از اردن و لیبی و در تاج‌ریزی (*Solanum nigrum* L.) و *Solanum sodomaeum* L. از مراکش گزارش شده است (ال ماتوئی و همکاران، ۱۹۸۵؛ دانش و لوکهارت، ۱۹۸۹؛ ال-موسی و لوکهارت، ۱۹۹۰؛ لوکهارت، ۱۹۸۷؛ روگرو و همکاران، ۱۹۹۵؛ لادیپو، ۱۹۷۷؛ پولوراکی و همکاران، ۱۹۹٦؛ مارتلی و شریف، ۱۹۸۷؛ کتزیواسیلیو و همکاران، ۲۰۰٤؛ کتیس و همکاران، ۲۰۰۰؛ کوستوا و همکاران، ۲۰۰۱؛ سیفو و همکاران، ۱۹۹۹؛ پلاوسیک و همکاران، ۱۹۷٦؛ پلاوسیک و همکاران، ۱۹۷۸؛ هامیلتون، ۲۰۰۱).

در ایران ویروس کوتولگی پیسه‌ای بادنجان، برای اولین بار در سیب‌زمینی از استان چهار محال و بختیاری توسط دانش و لوکهارت شناسایی و گزارش شده است و در این گزارش سیب‌زمینی برای اولین بار به‌عنوان میزبان این ویروس در دنیا معرفی گردید (دانش و لوکهارت، ۱۹۸۹). سپس این ویروس از شبدر برسیم (*Trifolium alexandrinum* L.) از اصفهان گزارش شد (دانش و همکاران، ۱۳٦۸). EMDV از مزارع گوجه‌فرنگی و بادنجان ورامین (قربانی، ۱۹۹۵، قربانی، ۱۹۹۳) و از مزارع سیب‌زمینی منطقه آب سرد دماوند شناسایی شد (فرزادفر و همکاران، ۲۰۰۰). همچنین دامنه میزبانی این ویروس در استان فارس شامل بادنجان، سیب‌زمینی، فلفل و تاج‌ریزی، در استان اصفهان بادنجان و سیب‌زمینی و در استان چهارمحال و بختیاری شامل سیب‌زمینی، بادنجان، گوجه‌فرنگی، تنباکو، خیار چنبر و خیار می‌باشد (بابایی و ایزدپناه، ۲۰۰۲). تاکنون بیشترین آلودگی ویروس کوتولگی پیسه‌ای بادنجان در کشور مربوط به شهرکرد با حداکثر آلودگی ۳۵ درصد در آلوده‌ترین مزارع بادنجان گزارش گردیده است (بابایی و ایزدپناه، ۲۰۰۲).

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌ها: به‌منظور شناسایی ویروس کوتولگی پیسه‌ای بادنجان در استان‌های خراسان شمالی و رضوی از مزارع گیاهان مختلف شهرستان‌های مشهد، نیشابور، تربت‌جام، جیم‌آباد، فریمان، سرخس، چناران، قوچان و بجنورد بازدیدهایی به‌عمل آمد. از گیاهانی که دارای علائم مشکوک به ویروس کوتولگی پیسه‌ای بادنجان شامل کوتولگی، بد شکلی برگ و زردی رگبرگ بودند، نمونه‌گیری به‌عمل آمد. مزارع مورد بازدید و نمونه‌گیری شامل گوجه‌فرنگی، سیب‌زمینی، فلفل، بادنجان، خیار، کدو، خربزه، هندوانه و لوبیا بودند. همچنین از علف‌های هرز عمده این مزارع مانند تاج‌ریزی، سلمه و داتوره نیز نمونه‌گیری به‌عمل آمد، سپس نمونه‌های مورد نظر جهت انجام آزمون‌های سرولوژیکی مانند الایزا و نشت دوطرفه در آگار به آزمایشگاه منتقل گردیدند و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

شناسایی، پراکنش و دامنه میزبانی طبیعی ویروس: جهت شناسایی قطعی ویروس در میزبان‌های مورد سنجش و مناطق مورد بررسی از آزمون الایزا و جهت تعیین پراکنش ویروس در مناطق مورد بررسی از روش مشاهده علائم و برآورد تخمینی استفاده گردید. به این منظور به‌طور تصادفی، قسمت‌های مختلف مزرعه مورد مشاهده قرار گرفته و درصد گیاهان مشکوک به علائم ویروس کوتولگی پیسه‌ای بادنجان (که البته پس از انجام آزمون الایزا آلودگی آنها مورد تأیید قرار گرفته باشد) به مجموع گیاهان مورد مشاهده در آن مزارع، به‌عنوان میزان پراکنش ویروس محسوب گردید. تا حد ممکن سعی شد که از میزبان بادنجان در منطقه جهت تعیین پراکنش ویروس استفاده شود ولی چنانچه کشت بادنجان در منطقه محدود باشد (مانند شهرستان‌های سرخس، تربت جام،

Archive of SID

www.SID.ir

فریمان و جیم‌آباد) می‌توان از میزبان‌های دیگر مانند گوجه‌فرنگی و سیب‌زمینی که دارای علائم مشکوک به ویروس بودند، استفاده کرد و جهت تأیید آلودگی آنها استفاده از روش‌های سرولوژیک ضروری بود زیرا علائم این ویروس در این دو میزبان می‌تواند با علائم ویروسی دیگر اشتباه گردد.

تعیین دامنه میزبانی ویروس در شرایط گلخانه: جهت بررسی دامنه میزبانی ویروس در شرایط گلخانه، از روش مایه‌زنی ویروس به روش انتقال مکانیکی به ۱۶ گونه و واریته گیاهی استفاده گردید (جدول ۱).

جهت بررسی علائم و تغییرات ایجاد شده در گیاهان مشاهدات دقیقی صورت گرفت. به‌منظور بررسی و تأیید دامنه میزبانی ویروس، کلیه گیاهان مایه‌زنی شده توسط آزمون الایزا مورد سنجش قرار گرفتند. همچنین راندمان انتقال مکانیکی نیز با تأیید آزمون الایزا برای هر گیاه با توجه به تعداد گیاهان آلوده به نسبت کل گیاهان مورد مایه‌زنی، مورد ارزیابی قرار گرفت.

انتقال مکانیکی: جهت مایه‌زنی مکانیکی ویروس به گیاهان مورد سنجش در شرایط گلخانه، از بافر فسفات ۰/۱ مولار با pH ۷/۲، حاوی ۰/۲ درصد سولفیت سدیم[1]، ۰/۱ درصد ۲- مرکاپتواتانول[2] و ۱ درصد (نسبت وزن به حجم) پودر کربوراندوم ۶۰۰ مش استفاده گردید. منابع مورد استفاده ویروس در سنجش انتقال مکانیکی در گلخانه، جدایه‌های آلوده بادنجان نیشابور و گوجه‌فرنگی چناران بودند.

آزمون الایزا: منبع آنتی‌سرم مورد استفاده، آنتی‌سرم تهیه شده توسط پروفسور بن لوکهارت و دکتر داریوش دانش در دانشگاه مینوسوتا علیه جدایه ایرانی ویروس جدا شده از سیب‌زمینی (EMDV-P/Ir) آلوده در اصفهان می‌باشد. رقت آنتی‌سرم و کانجوگیت مورد استفاده از آنتی‌سرم منبع جهت آزمون الایزا در این تحقیق برابر با ۱۰۰۰:۱ می‌باشد. آزمون DAS-ELISA مطابق با روش کلارک و آدامز (۱۹۷۷) و با کمی تغییرات براساس پروتوکول ارسالی پروفسور لوکهارت و آنتی‌سرم و کانجوگیت ارسالی پروفسور لوکهارت و دکتر دانش انجام شد.

جدول ۱- گیاهان مورد مطالعه جهت تعیین دامنه میزبانی در شرایط گلخانه.

گونه و خانواده	نام فارسی	مرحله رشد و سن (روز) مناسب جهت مایه‌زنی
Chenopodiaceae *Chenopodium amaranticolor* cost & Reynier.	سلمک	۵-۶ برگی (۵۰-۶۰)
Chenopodium quinoa Willd.	سلمک	۵-۶ برگی (۵۰-۶۰)
Amarantaceae *Gompherena globosa* L.	گل‌تکمه‌ای	۴-۵ برگی (۷۰)
Cucurbitaceae *Cucumis sativus* L.	خیار	دو برگ کوتیلدونی (۱۰)
Cucumis melo L.	خربزه	دو برگ کوتیلدونی (۱۰)
Cucurbita maxima Duchesne.	کدو	دو برگ کوتیلدونی (۱۰)
Cucurbita pepo L.	کدو	دو برگ کوتیلدونی (۱۰)
Solanaceae *Solanum melongena* L.	بادنجان	۳-۴ برگی (۳۰-۳۵)
Solanum nigrum L.	تاج‌ریزی	۳-۴ برگی (۳۰-۳۵)
Solanum tuberusum L.	سیب‌زمینی	۳-۴ برگی (۱۵-۲۰)
Capsicum annuum L.	فلفل	۳-۴ برگی (۳۰-۳۵)
Lycopersicum esculantum L.	گوجه‌فرنگی	۳-۴ برگی (۳۵-۴۰)
L. *Nicotiana glutinosa*	توتون	۳-۴ برگی (۳۵-۴۵)
Nicotiana tabacum L. var.*Turkish*	توتون	۳-۴ برگی (۳۵)
Nicotiana tabacum var. L. *White barley*	توتون	۳-۴ برگی (۳۵)
Nicotiana tabacum var. L. *Havana*	توتون	۳-۴ برگی (۳۵)

1- Na_2SO_3
2- Mercaptoethanol

Archive of SID

www.SID.ir

آزمون نشت دو طرفه در آگار و مقایسه سرولوژی جدایه‌های EMDV: جهت مقایسه سرولوژیک جدایه‌های ویروس کوتولگی پیسه‌ای بادنجان با یکدیگر از چند جدایه متفاوت متعلق به چند شهرستان متفاوت در میزبان‌های مشابه و متفاوت استفاده گردید. نمونه‌های آلوده‌ای که آلودگی آنها با آزمون الایزا مورد تأیید قرار گرفته بود در حداقل بافر فسفات مورد استفاده در مایه‌زنی مکانیکی، عصاره‌گیری و در آزمون نشت دو طرفه در آگار استفاده شدند. محیط مورد استفاده در این آزمون حاوی ۰/۷۵درصد آگارز، ۰/۸۵درصد کلرید سدیم و ۰/۱درصد آزید سدیم بود. پس از ۲٤–٤۸ ساعت نحوه واکنش و تشکیل هلال‌های حاصل در محیط آگارز مورد بررسی قرار داده شد و با مقایسه روابط سرولوژیک جدایه‌ها، نتیجه‌گیری نهایی انجام گرفت.

نتایج

شناسایی، پراکنش و دامنه میزبانی طبیعی ویروس: نتایج این تحقیق، شناسایی ویروس کوتولگی پیسه‌ای بادنجان را در استان‌های خراسان شمالی و رضوی مورد تأیید قرار می‌دهد. دامنه میزبانی این ویروس در استان خراسان رضوی به سه میزبان بادنجان، گوجه‌فرنگی و سیب‌زمینی و در استان خراسان شمالی تنها به میزبان بادنجان، محدود شده است (جدول ۲ و شکل ۱).

تعیین دامنه میزبانی ویروس در شرایط گلخانه: نتیجه نهایی دامنه میزبانی ویروس در شرایط گلخانه در گیاهان مورد بررسی (جدول ۳ و شکل‌های ۲، ۳، ٤، ٥، ٦ و ۷) نشان داد که هیچ یک از گیاهان خانواده کدوییان توانایی میزبان بودن را از طریق انتقال مکانیکی برای این ویروس نشان نمی دهند.

جدول ۲- نتایج شناسایی ویروس کوتولگی پیسه‌ای بادنجان در میزبان‌ها و مناطق مختلف مورد بررسی در استان‌های خراسان شمالی و رضوی.

شهرستان	مزارع مورد بازدید	بادنجان	گوجه‌فرنگی	سیب‌زمینی
مشهد	مزارع خواجه ربیع	+	−	−
	حومه مشهد	+	−	−
	مزارع آستان قدس	−	−	−
چناران	مزرعه تحقیقاتی دانشکده	−	+	+
	روستای زن آقول	−	−	−
	قوشق آباد	−	−	−
	چنار سوخته	−	−	−
	روستای چهار تاق	−	−	−
	روستای شیخا	−	−	−
	گلشن آباد	−	+	−
قوچان	حومه قوچان	−	−	+
	شن شویی	−	−	−
بجنورد	بابا امان	+	−	−
	حومه بجنورد	−	−	−
سرخس	سرخس و حومه	−	−	−
فریمان	حومه	−	−	+
جیم آباد	حومه	−	+	−
	حومه	−	−	−
تربت جام	روستای حاجی آباد	−	−	−
	روستای قلعه سرخ	−	−	−
	روستای نصر آباد	−	−	−
نیشابور	حومه نیشابور	+	−	−
	روستای باغشن	+	−	−
	روستای بوژآباد	+	+	+

Archive of SID

www.SID.ir

شکل ۱- A, B وC: علائم EMDV در بادمجان آلوده نیشابور D، E و F: علائم EMDV در گوجه‌فرنگی آلوده چناران.

جدول ۳- واکنش گیاهان مورد مطالعه در برابر مایه‌زنی ویروس کوتولگی پیسه‌ای بادنجان.

میزبان	*CLL*	*NLL*	*VC*	*VY*	*SI*	*IS*
Chenopodium amaranticolor cost & Reynier.	+	-	-	-	-	-
Chenopodium quinoa Willd.	+	-	-	-	-	-
Gompherena globosa L.	-	+	-	-	-	-
Cucumis sativus L.	-	-	-	-	-	+
Cucumis melo L.	-	-	-	-	-	+
Cucurbita maxima Duchesne.	-	-	-	-	-	+
Cucurbita lagenaria L.	-	-	-	-	-	+
Solanum melongena L.	+	-	-	+	-	-
Solanum nigrum L.	-	-	-	-	+	-
Solanum tuberusum L.	-	-	-	-	+	-
Capsicum annuum L.	-	-	-	-	-	+
Lycopersicum esculantum L.	-	-	+	-	-	-
Nicotiana glutinosa L.	+	-	+	+	-	-
Nicutiana tabacum L. var *Tturkish*	+	+	+	-	-	-
Nicutiana tabacum L. var *White barlly*	+	+	+	-	-	-
Nicutiana tabacum L. var *Havana*	+	+	+	-	-	-

CLL = Cholorotic local lesion لکه موضعی کلروتیک

NLL = Necrotic local lesion لکه موضعی نکروتیک

VC = Vein clearing روشن شدن رگبرگ

VY = Vein yellowing زرد شدن رگبرگ

SI = Symptomless infection آلودگی بدون علائم

IS = Insusceptible غیر حساس

Archive of SID

www.SID.ir

شکل ۲- **A** و **B**: واکنش لکه موضعی کلروتیک در برگ *Chenopodium quinoa* و *C. amaranticolor*.

شکل ۳- **A**: واکنش لکه موضعی نکروتیک در *Gomphrena globosa* و **B**: کلروتیک در *Nicotiana glutinosa*

شکل ٤- **A**: تشکیل لکه کلروتیک درخشنده در برگ مایه‌زنی شده و **B**: روشن شدن رگبرگ و سیستمیک شدن بیماری در *N. tabacum* var. *Havana*.

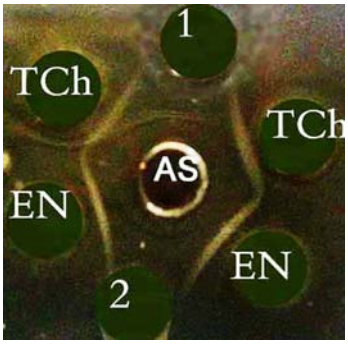
شکل ٥- روشن شدن رگبرگ در اثر مایه‌زنی EMDV در **A**: *N. tabacum* var. *Turkish* و **B**: در گوجه‌فرنگی.

www.SID.ir

شکل ٦- علائم سیستمیک شدن بیماری در *N. glotinosa*a در اثر مایه‌زنی ویروس به همراه: A: زردی رگبرگ B: تغییر رنگ برگ‌های قدیمی به دو بخش زرد و سبز.

شکل ۷- A: ایجاد لکه کلروتیک در برگ مایه‌زنی شده و B: زردی رگبرگ و سیستمیک شدن بیماری در اثر مایه‌زنی ویروس در بادمجان.

آزمون نشت دوطرفه در آگار و مقایسه سرولوژیک جدایه‌های EMDV: نتایج حاصل از جدایه‌های EMDV با یکدیگر بین چند جدایه متفاوت متعلق به شهرستان‌های متفاوت در میزبان‌های مشابه و متفاوت نشان داد که تمامی جدایه‌های شناسایی شده در یک گروه سرولوژیکی و سروتیپی قرار می‌گیرند و از این نظر تفاوتی را نشان ندادند (شکل ۸).



جدایه گوجه‌فرنگی چناران= TCh
جدایه بادنجان نیشابور = EN
آنتی‌سرم EMDV = AS
شاهد منفی (بافر فسفات) = 1و2

شکل ۸- نمایش آزمون نشت دو طرفه در آگار.

Archive of SID

www.SID.ir

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به آنکه تاکنون اطلاعات جامعی در زمینه معرفی خصوصیات ژنومی ویروس کوتولگی پیسه‌ای بادنجان در دست نمی‌باشد، بنابراین می‌توان روش‌های سرولوژیک را دقیق‌ترین و مفیدترین ابزار جهت شناسایی ویروس کوتولگی پیسه‌ای بادنجان حائز اهمیت دانست. بنابر نتایج این آزمون‌ها می‌توان آلودگی قطعی استان‌های خراسان شمالی و رضوی به این ویروس محرز است و روستای بوژان از توابع شهرستان نیشابور آلوده‌ترین منطقه با حداکثر آلودگی ۱۵درصد و شهرستان‌های سرخس و تربت‌جام فاقد آلودگی در فصل زراعی سال ۱۳۸۳ معرفی می‌شوند. دیگر مناطق این دو استان نیز از نظر آلودگی یکسان و پایین و کمتر از ۱درصد در پایان فصل زراعی بودند. همچنان که دامنه میزبانی ویروس در مناطق مورد بازدید یکسان نبود (جدول ۳)، پراکنش ویروس نیز در شکل تمامی مناطق یکسان نبود. به‌رغم تلاش‌های صورت گرفته حتی تنها یک میزبان آلوده به EMDV برای سرخس و تربت‌جام شناسایی نشد. در واقع این دو شهرستان بدون آلودگی گزارش می‌شوند. شاید، یکی از دلایل عدم شناسایی EMDV در شهرستان سرخس را بتوان عدم کشت و یا کشت بسیار محدود میزبان‌های اصلی این ویروس ذکر نمود به‌طوری‌که حتی برای یافتن یک مزرعه بادنجان، گوجه‌فرنگی و یا سیب‌زمینی بسیار باید تلاش نمود، در حالی‌که عمده محصولات کشت شده در این شهرستان خربزه، پنبه، چغندر، ذرت، یونجه و یا محصولات دیگری هستند که اهمیت کمتری را در دامنه میزبانی این ویروس دارند و هیچ کدام از این محصولات در میزبان بودن این ویروس در این تحقیق تأیید نشدند. تمامی بخش‌های میوه بوته‌های بادنجان آلوده و بذور آنها با آزمون الایزا مورد سنجش قرار گرفته و آلودگی بذور و تمامی بخش‌های میوه‌های گیاهان آلوده نیز مورد تأیید قرار گرفتند.

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که خوشبختانه پایین بودن شدت آلودگی ویروس کوتولگی پیسه‌ای بادنجان در استان‌های خراسان شمالی و رضوی تا حدی است که نیاز به اعمال کنترل این ویروس برای اکثر این مناطق نیست، اما با مشاهده آلودگی بالای EMDV در نیشابور بویژه در روستای بوژان، و همچنین حضور این بیماری ویروسی به‌عنوان مهم‌ترین و جدی‌ترین بیماری کاهش‌دهنده محصول مزارع بادنجان و یک بیماری ویروسی مؤثر بر محصولات دیگر، مانند سیب‌زمینی و گوجه‌فرنگی، اعمال مدیریت و کنترل آن در این منطقه ضروری می‌باشد. نتایج آزمایش‌های گلخانه‌ای نیز نشان داد که انتقال مکانیکی این ویروس به همراه ظهور علایم سیستمیک در شرایط گلخانه، بیشتر به خانواده بادنجانیان محدود می‌گردد. اگرچه انتقال مکانیکی این ویروس در برخی از گیاهان امکان‌پذیر می‌باشد ولی موفقیت این عمل، همیشه با ظهور علائم بارز همراه نمی‌باشد. به‌عنوان مثال، بررسی انتقال مکانیکی EMDV در تاج‌ریزی نشان داد که این ویروس دارای قابلیت انتقال مکانیکی بدون ظهور علائم خاص و می‌باشد و تنها روش حساس جهت‌شناسایی و ردیابی ویروس آزمون الایزاست و یا در سیب‌زمینی این ویروس پس از مایه‌زنی در تعدادی از گیاهان سبب بروز تنها، نکروز خفیف سرشاخه شد که اهمیت زیادی در شناسایی ویروس ندارد. برخی از میزبان‌های این ویروس نیز مانند تاج‌ریزی و سیب‌زمینی توانستند توسط انتقال مکانیکی بدون ظهور علائم ویژه و با راندمان پایین به این ویروس آلوده شوند، که البته تنها دلیل مؤید آلودگی ویروس در این گیاهان مثبت بودن آزمون الایزا بود. میزان راندمان انتقال مکانیکی به‌طورکلی پایین می‌باشد به‌طوری‌که پس از مایه‌زنی گیاهان مورد مطالعه توسط عصاره آلوده توتون رقم تورکیشی که در شرایط گلخانه به EMDV آلوده شده بود و علایم سیستمیک بیماری نظیر روشن شدن رگبرگ را به خوبی بروز داده بود در سیب‌زمینی، گوجه‌فرنگی، بادنجان و تاج‌ریزی حدود ۲۰-۱۰درصد و برای ارقام و واریته‌های مختلف توتون بالاتر و حدود ۷۰-۵۰درصد متغیر بود. مطالعات سرولوژیکی آزمون نشت دو طرفه در آگار نشان داد که احتمالاً بر خلاف

Archive of SID

www.SID.ir

استان‌های مرکزی و جنوبی کشور که دارای دو نوع سروتیپ فعال ویروس می‌باشند (بابایی و ایزدپناه، ۲۰۰۲)، در استان‌های خراسان شمالی و رضوی احتمالاً تنها یک سروتیپ ویروس به‌طور فعال وجود دارد. بنابراین، با توجه به یکسان بودن نوع سروتیپ‌ها در شمال شرق کشور، نمی‌توان تفاوت پراکنش و شدت آلودگی ویروس را برای دو منطقه با درجه آلودگی بالا و پایین (مانند نیشابور و چناران) و حتی در دو میزبان متفاوت (مانند بادنجان و گوجه‌فرنگی) برای استان‌های خراسان شمالی و رضوی توجیه نمود.

نتایج حاصل از این تحقیق در استان‌های مذکور و پژوهش‌های انجام گرفته دیگر در سایر مناطق کشورمان، نشان می‌دهند که وضعیت آلودگی تمام مناطق کشور به ویروس کوتولگی پیسه‌ای بادنجان مشابه نمی‌باشد. ظاهراً مناطقی که از شرایط آب و هوایی گرم‌تری برخوردارند در مقایسه با مناطق خنک‌تر، وضعیت آلودگی کمتر و یا بدون آلودگی‌ای را از خود نشان می‌دهند (بابایی و ایزدپناه، ۲۰۰۲). شاید بتوان عدم گزارش آلودگی شهرستان سرخس از استان خراسان رضوی و همچنین عدم آلودگی استان بوشهر در جنوب کشور را به این ویروس، با این دلیل توجیه نمود (بابایی و ایزدپناه، ۲۰۰۲). براساس نتایج این تحقیق و گزارش‌های بابایی و ایزدپناه، می‌توان شهرستان شهرکرد را به‌عنوان آلوده‌ترین منطقه کشور با میزان آلودگی ۳۵ درصد به EMDV و شهرستان نیشابور را در استان‌های خراسان شمالی و رضوی با حداکثر آلودگی ۱۵ درصد در پایان فصل زراعی در رتبه دوم آلودگی کشور به این ویروس گزارش نمود. همچنین براساس همین نتایج، می‌توان وضعیت آلودگی استان‌های خراسان شمالی و رضوی (به استثنای شهرستان نیشابور) را مشابه استان‌های تهران، اصفهان و فارس و با میزان آلودگی‌ای در حد شناسایی ویروس حائز اهمیت دانست (بابایی و ایزدپناه، ۲۰۰۲؛ فرزادفر و همکاران، ۲۰۰۰؛ قربانی، ۱۹۹۳ و ۱۹۹۵). محدودیت دامنه میزبانی استان‌های خراسان رضوی را به سه میزبان بادنجان، گوجه‌فرنگی و سیب‌زمینی و استان خراسان شمالی را تنها به میزبان بادنجان، در مقایسه با استان چهارمحال و بختیاری که دارای شش میزبان طبیعی برای EMDV است می‌توان به‌علت شدت آلودگی پایین‌تر این ویروس توجیه نمود. علت اصلی پایین بودن شدت آلودگی و محدود بودن دامنه میزبانی در استان‌های خراسان شمالی و رضوی کاملاً مشخص نمی‌باشد؛ اما شاید کشت بسیار محدود میزبان اصلی این ویروس، یعنی بادنجان و همچنین محدود شدن کشت وسیع این میزبان تنها در دو شهرستان مشهد (بویژه منطقه خواجه ربیع) و نیشابور از مهمترین دلایل این امر باشند. همچنین وجود شرایط آب و هوایی گرم در اکثر مناطق این دو استان را نیز می‌توان به‌عنوان یکی از عوامل محدودکننده فعالیت این ویروس ذکر نمود. البته به علت اختصاصی بودن ناقل طبیعی ویروس (بابایی و ایزدپناه، ۲۰۰۳) از شناسایی نقش ناقل طبیعی، فعالیت، پراکنش و میزان جمعیت و شرایط مؤثر در فعالیت آن در استان‌های خراسان شمالی و رضوی نیز هرگز نباید چشم‌پوشی نمود.

سپاسگزاری

از دکتر دانش و پروفسور لوکهارت در دانشگاه مینوسوتا جهت تهیه و ارسال آنتی‌سرم و کانجوگیت ویروس و همچنین راهنمایی‌های ارزنده‌شان، دکتر ایزدپناه و مهندس بابایی بی‌نهایت سپاسگزاری می‌شود.

Archive of SID

www.SID.ir

منابع

1.Al-musa, A.M., and Lockhart, B. 1990. Occurrence of *Eggplant mottled dwarf virus* in Jordan. J. Phytopathol. 128:283-287.

2.Babaie, Gh., and Izadpanah, K. 2002. Host range, distribution, isolation and transmission trials of *Eggplant mottled dwarf virus*. Iranian journal of plant pathology. 38(3-4). p235.

3.Babaie, Gh., and Izadpanah, K. 2003. Vector transmission of *Eggplant mottled dwarf virus* in Iran. J. Phytopathology. 151: 679-682.

4.Chatzivassiliou, E.K., Efthimiou, K., Drossos, E., Papadopoulou, Poimenidis., G., and Katis, N.I. 2004. A survey of tobacco viruses in tobacco crops and native flora in Greece. European J. Plant Pathology. Vol: 11, No: 10, 1011-1024.

5.Ciffuo, M., Roggero, P., and Masenga, V. 1999. Natural infection of muskmelon by *Eggplant mottled dwarf rhabdovirus* in Italy. Plant Dis. 83:78.

6.Clark, M.F., and Adams, A.N. 1977. Characterization of microplate method of enzyme-Linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. J. Gen. Viro. 34: 475-483.

7.Danesh, D., and Lockhart, B.E.L. 1989. *Eggplant mottled dwarf virus* in potato in Iran. Plant Dis. 73:856-858.

8.Danesh, D., Bahar, M., Ahoonmanesh, A., and Ghobadi, C. 1989. Some new hosts of Potato chlorotic stunt virus in Isfehan. Proceeding of the ninth plant protection congress of Iran, September 9-14, Mashhad, Iran, and p168.

9.El Maatoui, M., Lockhart, B.E.L., and Lesemann, D.E. 1985. Biological, serological and cytopathological properties of *Tomato vein yellowing virus*, a rhabdovirus occuring in tomato in Morocco. Phytopathology. 75:109-115.

10.Farzadfar, Sh., Pourrahim, R., Golnaraghi, A.R., and Shahraeen, N. 2000. Detection of *Eggplant mottled dwarf virus* in potato fields of Damavand. Proceeding of the 14th Iranian plant protection congress, September 5-8, Isfehan University of technology, Iran, p313.

11.Ghorbani, S. 1993. Identification of *Tomato vein yellowing virus* (TYVV) in Tehran province. Proceeding of the 11th Iranian plant protection congress. Aughst 28 -September 2, Rasht, Iran, p158.

12.Ghorbani, S. 1995. Identification of *Eggplant mottled dwarf virus* (EMDV) in Tehran province. Proceeding of the 12th Iranian plant protection congress. September 2-7, Karaj, Iran, p178.

13.Hamilton, D. 2001. *Eggplant mottled dwarf virus* – Bulgaria. New Disease Reports. Vol 3. British Soc. Plant pathology.

14.Katis, N.I., Chatzivassiliou, E.K., Clay, C., Avgelis, A., Manossopoulos, I., and Lecoq, H. 2000. Occurrence of *Eggplant mottled dwarf nucleorhabdovirus* (EMDV) in tobacco and cucumber in Greece. Phytopathologia Mediter. 39: 318.

15.Kostova, D., Masenga. V., Milne, R.G., and Lisa, V. 2001. First report of *Eggplant mottled dwarf virus* in cucumber and pepper in Bulgaria. Plant Pathology. 50 (6). p804

16.Ladipo, J.L. 1977. A yellow-vein virus like disease of tomato in Nigeria. Plant Disease Reporter. 61:958-960

17.Lockhart, B.E.L. 1987. Evidence for identity of plant rhabdovirus causing vein-yelloing disease of tomato and *Hibiscus rosa- sinensis*. Plant Dis. 71:731-733.

18.Martelli, G.P., and Cherif, C. 1987. *Eggplant mottled dwarf virus* associated with vein yellowing of honeysuckle. J.phytopathol. 119:32-41

19.Martelli, G.P., and Russo, M. 1973. *Eggplant mottled dawarf virus*. CMI/AAB Descriptions of plant viruses. No.115

20.Plavisic, B., Milicic, D., and Eric, Z. 1978. Occurrence of *Pittosporium vein clearing virus* in Libya. Phytopathol. Z. 91: 67-75.

21.Plavsic, B., Milicic, D., and Eric, Z. 1976. Rhabdovirus in *Pittosporum tobria* plants suffering from vein yellowing disease. Phytopath. Z. 86, 225-232.

22.Polveraki, A., Castellano, M.A., and Marte, M. 1996. The natural occurrence of *Eggplant mottled dwarf rhabdovirus* in tobacco in Italy. Journal. Phytopathol. 144 (1), 1996 p.25-27

23.Roggero, P., Milne, R.G., Masenga, V., and Ogliara, P. 1995. First repot of *Eggplant mottled dwarf virus* in cucumber and in pepper. Plant Dis. 79:231

Archive of SID

www.SID.ir

J. Agric. Sci. Natur. Resour., Vol. 14(3), July-Aug 2007
www.sid.ir
www.magiran.com/jasnr

Infective possibility, distribution and host range study of *Eggplant mottled dwarf virus* (EMDV) in Northern and Razavi Khorasan provinces

M. Jafari[1], B. Rooz Jafarpour[2] and M. Falahati Rastegar[2]
[1]Former M.Sc. student of Dept. of Plant pathology, Ferdowsi University of Mashhad, Iran
[2]Full Prof. of Dept. of plant Pathology, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

Abstract

This study was carried out to determine the presence of *Eggplant mottled dwarf virus (*EMDV) and its natural host range in Northern and Razavi Khorasan provinces between June 2003 to September of 2004. For this purpose plants showing, leaf malformation, dwarfing and vein clearing symptoms were collected from different cultivars of solanaceae and cucurbitaceae, from areas such as: Mashhad, Neishabour, Torbate-Jam, Jim-Abad, Fariman, Sarakhs, Chenaran, Ghochan and Bojnord. Each sample was individually prepared for serological tests including ELISA and double diffusion in agar, using special antiserum of the virus. The efficiency mechanical transmission and host range studies were preformed on 16 different plant species under controlled environmental condition in a greenhouse. The results showed that Northern and Razavi Khorasan provinces were both infected with *Eggplant mottled dwarf virus*. In Northern Khorasan the natural host range of this virus was only limited to eggplant whereas in Razavi Khorasan, in addition to eggplant, potato and tomato were also infected. In this state, Neishabour had the highest infection rate while there was no infection in Sarakhs and Torbate-jam. The results of double diffusion test for isolates from different regions and hosts reveled the existence of just one active virus serotype in Northern and Razavi Khorasan provinces.

Keywords: *Eggplant mottled dwarf virus*; Identification; Distribution; Host range; Serotype

Archive of SID

www.SID.ir