Archive of SID

مقایسه دامنه میزبانی طبیعی و آزمایشگاهی ویروس‌های پیچیدگی شدید و ایرانی بوته چغندرقند و ویروس پیچیدگی برگ زرد گوجه فرنگی*

درنا جهان‌بین، کرامت‌الله ایزدپناه و سیدعلی‌اکبر بهجت‌نیا[1]**

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۲/۱۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۶/۲۹)

چکیده

جدایه ایرانی ویروس پیچیدگی شدید بوته چغندرقند (BSCTV-IR) و ویروس ایرانی پیچیدگی بوته چغندرقند (BCTIV)، به ترتیب از جنس‌های *Curtovirus* و *Becurtovirus* به عنوان عوامل بیماری پیچیدگی بوته چغندرقند از ایران گزارش شده‌اند. علاوه بر چغندرقند، گوجه‌فرنگی و فلفل از مهم‌ترین میزبان‌های اقتصادی این ویروس‌ها محسوب می‌شوند. بیماری پیچیدگی برگ گوجه‌فرنگی از مهم‌ترین بیماری‌های ویروسی گوجه‌فرنگی می‌باشد. جدایه ایرانی ویروس پیچیدگی برگ زرد گوجه‌فرنگی ([TYLCV-[Ab])، یک سویه شدید از TYLCV (جنس *Begomovirus*)، از عوامل اصلی این بیماری در جنوب کشور می‌باشد. تاکنون تفکیکی بین دامنه میزبانی این ویروس‌ها انجام نشده است. برای تعیین میزبان‌های طبیعی این سه ویروس اقدام به نمونه‌برداری از مزارع چغندرقند، گوجه‌فرنگی، فلفل، شلغم، اسفناج و فضای سبز استان فارس گردید و برای تعیین میزبان‌های آزمایشگاهی آنها اقدام به کشت ۳۳ گونه گیاهی که بذر آنها برای تهیه گیاهچه در دسترس بود شد. مایه‌زنی گیاهچه‌ها با استفاده از همسانه‌های عفونت‌زا سه ویروس انجام شد. جمع‌بندی نتایج مربوط به مطالعه حاضر و تحقیقات گذشته مشخص نمود که BSCTV-IR دارای دامنه‌ی میزبانی طبیعی وسیع‌تری نسبت به BCTIV می‌باشد. بیشتر میزبان‌های آزمایشگاهی BSCTV-IR و BCTIV از خانواده‌های Solanaceae، Brassicaceae، Fabaceae و Amaranthaceae می‌باشند. [TYLCV-[Ab دامنه میزبانی محدودی دارد و تنها میزبان طبیعی شناسایی شده آن گوجه‌فرنگی بود. با وجود این مشخص شد که لوبیا قرمز، لادن، اطلسی، تاج خروس، داتوره، تاج‌ریزی و عروسک پشت پرده میزبان‌های آزمایشگاهی [TYLCV-[Ab هستندکه تاکنون گزارش نشده بودند.

کلیدواژه: بگوموویروس، جمینی ویروس، کرتوویروس، بی کرتوویروس

---

* بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول، ارائه شده به دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز

** مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: behjatni@shirazu.ac.ir

۱. به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، استاد و دانشیار بیماری‌شناسی گیاهی بخش گیاه‌پزشکی دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز.

www.SID.ir

Archive of SID

Comparison of natural and experimental host range of Beet severe curly top, Beet curly top Iran and Tomato yellow leaf curl viruses*

D. Jahanbin, K. Izadpanah and S.A.A. Behjatnia[1]**

(Received: 7.5.2015; Accepted: 20.9.2015)

Abstract

Beet curly top Iran virus (BCTIV, genus *Becurtovirus*) and Beet severe curly top virus (BSCTV-IR, genus *Curtovirus*) induce beet curly top disease in different regions of Iran. In addition to sugar beet, tomato and pepper are important hosts of these viruses. Also tomato yellow leaf curl disease (TYLCD) is a serious disease of tomato in Iran. The Iranian isolate of Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV-[Ab]), a severe strain of TYLCV (genus *Begomovirus*), is a major component of TYLCD in southern Iran. Until now, no information is available regarding comparative host range of these viruses. To determine the natural hosts of BSCTV-IR, BCTIV and TYLCV-[Ab], samples of sugar beet, tomato, pepper, turnip and spinach were collected from different regions in Fars province. For the experimental host range determination, a number of plants were grown in the greenhouse and their seedlings were agroinoculated with the infectious clone of each virus. The results showed that BSCTV-IR has a wider natural and experimental host range compared to BCTIV. These results indicated that member of Solanaceae, Brassicaceae, Fabaceae and Amaranthaceae are most frequently infected by BSCTV-IR and BCTIV. Natural host range of TYLCV-[Ab] seemed to be very narrow as, in the present study, this virus was isolated only from tomato. However, under greenhouse conditions, bean, nasturtium, petunia, redroot pigweed, datura, night shade and ground cherry were found to be infected by this virus.

Keywords: *Becurtovirus*, *Begomovirus*, *Curtovirus*, Geminivirus

---

* Part of MSc. Thesis of The First Author Submitted to College of Agric., Shiraz Univ., Shiraz, Iran.

** Corresponding author's E-mail: behjatni@shirazu.ac.ir

1. Former MSc. Student, Prof. and Assoc. Prof. of Plant Pathol., College of Agric., Shiraz Univ., Shiraz, Iran.

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

بیماری پیچیدگی بوته چغندرقند یکی از عوامل خسارت‌زای کشت چغندرقند در ایران و سایر کشورهای دنیا به حساب می‌آید (Bennett 1971, Gibson 1967, Izadpanah 1967). این بیماری به طور کلی توسط چندین گونه ویروس متعلق به جنس *Curtovirus* و از جمله *Beet curly top virus* (BCTV)، *Beet severe curly top virus* (BSCTV)، *Beet mild curly top virus* و *Spinach curly top virus* (Brown *et al.* 2012) و گونه *Beet curly top Iran virus* (BCTIV) گونه تیپ جنس *Becurtovirus* (Varsani *et al.* 2014b) ایجاد می‌شود. گونه‌های ذکر شده از جنس *Curtovirus* قبل از تفکیک بر اساس خصوصیات مولکولی، تحت عنوان *Beet curly top virus* (BCTV) نامیده می‌شدند (Stenger and McMahan 1997) و اخیراً نیز پشنهاد شده است که از تاکسون گونه حذف و همگی به عنوان استرین‌های گونه‌ی BCTV در نظر گرفته شوند (Varsani *et al.* 2014a). جدایه‌ی ایرانی ویروس پیچیدگی شدید بوته‌ی چغندرقند (BSCTV-IR) که اخیراً به عنوان سویه‌ی شدید BCTV (BCTV-Svr [IR-SVR-86]) نامگذاری شده است (Varsani *et al.* 2014a) و ویروس ایرانی پیچیدگی بوته‌ی چغندرقند (BCTIV) به عنوان عوامل بیماری پیچیدگی بوته‌ی چغندرقند در ایران گزارش شده‌اند (Adams *et al.* 2013, Briddon *et al.* 1998, Bolok Yazdi *et al.* 2008, Heydarnejad *et al.* 2007).

دامنه‌ی میزبانی که قبلاً برای BCTV گزارش شده است بسیار وسیع بوده و علاوه بر گیاهان زراعی، بسیاری از گونه‌های علف هرز را نیز شامل می‌شود. بیش از ۳۰۰ گونه گیاه از ۴۴ تیره‌ی گیاهی به عنوان میزبان‌های BCTV شناخته شده‌اند (Bennett 1971). مهمترین این گیاهان از لحاظ اقتصادی چغندرقند، فلفل و گوجه‌فرنگی هستند (Severin 1929, Bennett 1971). از سال ۱۹۷۱ به بعد گونه‌های بیشتری از گیاهان زراعی، گیاهان وحشی و علف‌های هرز به عنوان میزبان این ویروس گزارش شده‌اند. با استفاده از یک آنتی‌سرم در آزمایش سرولوژیکی الیزا (ELISA)، ۲۳ گونه‌ی جدید گیاهی به عنوان میزبان‌های BCTV از استان فارس گزارش شده است (Ale-Yassin *et al.* 1995). *حیدرنژاد و همکاران* (Heydarnejad *et al.* 2007) با استفاده از آنتی‌سرم جدایه‌ی فارس BCTV در آزمون ELISA، آلودگی به این جدایه‌ی BCTV را در ۱۱ گونه علف هرز از هشت خانواده مختلف، چهار گونه گیاه زراعی و سه گونه گیاه گلخانه‌ای گزارش نمودند. این مطالعات مربوط به زمانی بوده است که گونه‌های ویروسی ایجادکننده بیماری پیچیدگی بوته چغندرقند از هم تفکیک نشده بودند. اگر چه در گزارش‌های متعددی میزبان‌های زراعی و غیرزراعی زیاد و متنوعی برای BCTV و اخیراً برای گونه‌های مختلف ایجادکننده بیماری پیچیدگی بوته چغندرقند معرفی شده‌اند ولی در حال حاضر مشخص نیست که این ویروس‌ها چه تفاوتی از لحاظ دامنه میزبانی دارند و عکس‌العمل هر میزبان به هر کدام از گونه‌ها چگونه است.

علائم بیماری پیچیدگی بوته چغندرقند شامل لوله شدن برگ‌های جوانِ داخل بوته به سمت بالا به موازات رگبرگ اصلی، رگبرگ روشنی، راست ایستادن برگ‌ها، تورم رگبرگ‌های فرعی، ایجاد برجستگی‌های سوزن مانند در سطح زیرین برگ‌ها و کاهش رشد می‌باشد. علی‌رغم شباهت‌های موجود در علائم ایجاد شده توسط گونه‌های مولد پیچیدگی بوته چغندرقند، تفاوت چشمگیری در شدت علائم و بیماری‌زایی جدایه‌های BCTV و گونه‌های

www.SID.ir

Archive of SID

فعلی بر روی چغندرقند در مزارع قابل مشاهده است (Stenger 1998). لکن تاکنون در مورد شدت علائم و شدت بیماری‌زایی این گونه‌ها بر روی چغندرقند در شرایط کنترل شده مانند شرایط گلخانه مقایسه‌ای صورت نگرفته است. بعلاوه BCTV بر روی گیاهان میزبان دیگر از قبیل گوجه‌فرنگی، اسفناج و لوبیا علایم مختلفی ایجاد می‌کنند که از جمله این علایم می‌توان به روشن شدن رگبرگ‌ها، ایجاد تورم و بدشکلی در برگ‌های جوان، کوتولگی شدید و نکروز آوندها در این گیاهان اشاره نمود (Šutić *et al.* 1999). تعیین نوع دقیق علائم توسط گونه‌های مولد پیچیدگی بوته در میزبان‌های مختلف نیاز به بررسی در شرایط کنترل شده دارد.

از میزبان‌های مهم BCTV، BCTIV و سایر گونه‌های جنس *Curtovirus* گیاه گوجه‌فرنگی است. برخی از این گونه‌ها از جمله BSCTV در گوجه‌فرنگی موجب پیچیدگی شدید برگ‌ها، ضخیم شدن رگبرگ‌ها، ریزبرگی، زردی برگ‌ها، ضعف و گاهی مرگ بوته‌های گوجه‌فرنگی می‌شوند (Kharazmi *et al*, 2012). این علائم بسیار شبیه به علائم بیماری پیچیدگی برگ گوجه‌فرنگی است که یکی از مهم‌ترین بیماری‌های ویروسی گوجه‌فرنگی می‌باشد و توسط گونه‌های متنوعی از جنس *Begomovirus* (تیره *Geminiviridae*) به نام‌های *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) و *Tomato leaf curl virus* (TLCV) ایجاد می‌شوند (Czosnek 2007). این ویروس‌ها نیز مانند گونه‌های جنس *Curtovirus* و *Becurtovirus* تفاوت چشمگیری از لحاظ شدت علائمی که روی گوجه‌فرنگی ایجاد می‌کنند با یکدیگر دارند ولی معمولا در میزبان‌های دیگر یا فاقد علائم هستند یا علائم متنوعی ایجاد می‌کنند (Behjatnia *et al.* 2009, Pakniat Jahromi *et al.* 2010). جمع‌بندی گزارش‌های اخیر (Behjatnia *et al.* 2011) نشان می‌دهد که حداقل سه گونه و شش سویه بگومو‌ویروس موجب بروز بیماری پیچیدگی برگ گوجه‌فرنگی در مزارع گوجه‌فرنگی مناطق مختلف ایران و مخصوصا در کشت گلخانه‌ای این محصول شده‌اند که از بین آنها [TYLCV-[Ab که یک سویه شدید از TYLCVدر ایران محسوب می‌گردد یکی از عوامل اصلی پیچیدگی برگ گوجه‌فرنگی در جنوب کشور می‌باشد (Pakniat Jahromi *et al.* 2010).

اگر چه در ایران مطالعات نسبتاً زیادی در مورد بیولوژی و اپیدمیولوژی بیماری‌های پیچیدگی بوته چغندرقند و پیچیدگی برگ گوجه‌فرنگی انجام شده است (Behjatnia et al. 2009, Ghodoum Parizipour, 2011; Heydarnejad et al. 2007, 2013b) و اخیراً مطالعاتی در مورد تنوع ویروس‌های ایجادکننده این بیماری‌ها صورت گرفته (Bolok Yazdi et al. 2008, Ebadzad Sahraei et al. 2008, Gharouni Kardani et al. 2013, Heydarnejad et al. 2013a, Pakniat Jahromi et al. 2010)، ولی تاکنون مطالعه جامعی در مورد تنوع و عکس‌العمل میزبانی هر یک از ویروس‌ها صورت نگرفته است. بهمین منظور در مطالعه حاضر نسبت به بررسی و مقایسه دامنه میزبانی طبیعی و آزمایشگاهی جدایه‌های سه ویروس ایرانی پیچیدگی بوته چغندرقند، پیچیدگی شدید بوته چغندرقند و پیچیدگی برگ زرد گوجه فرنگی و علائم ایجاد شده در میزبان‌های مهم آنها در شرایط گلخانه اقدام شد.

مواد و روش‌های بررسی

نمونه‌برداری

جهت تعیین دامنه میزبانی طبیعی ویروس‌های مورد مطالعه نمونه‌برداری از مزارع چغندرقند، گوجه‌فرنگی، فلفل، اسفناج، لوبیا، شلغم، بادمجان، پنبه و تربچه استان

www.SID.ir

Archive of SID

فارس صورت گرفت و گیاهانی که علایم پیچیدگی برگ، پیچیدگی بوته، زردی، خم شدن برگ به سمت پایین و نکروز رگبرگ‌ها نشان می‌دادند جمع‌آوری شد. همچنین از علف‌های هرزی از قبیل عروسک پشت پرده (*Physalis* sp.)، تاجریزی (*Solanum nigrum*)، تاج خروس (*Amaranthus retroflectus*) و پنیرک موجود در مزارع فوق‌الذکر و از گیاهان زینتی از قبیل اطلسی (*Petunia* hybrida)، میخک (*Dianthus caryophyllus*) و قرنفل (*Dianthus barbatus*) نمونه‌برداری شد. از برگ‌های انتهایی هر گیاه به مقدار ۲۰۰ میلی گرم بافت برگ برداشت و پس از فرو بردن در ازت مایع در دمای ۷۰°C- نگهداری شد تا در آزمایش‌های بعدی مورد استفاده قرار گیرد.

کشت، پرورش و مایه‌زنی گیاهان مورد آزمایش

به منظور تعیین میزبان‌های آزمایشگاهی ویروس‌های مورد مطالعه بذر ۲۳ گیاه زراعی و زینتی و ۱۰ گیاه غیر زراعی متنوعی که قابل دسترسی بودند (در مطالعه حاضر از ارقام محلی گیاهان در آزمایشگاه استفاده شد) در سینی‌های نشاء حاوی ۵۰٪ پیت ماس و ۵۰٪ پرلیت کشت داده شدند و یک ماه بعد از کشت بذر، نشاءها به گلدان‌های حاوی ۵۰٪ خاک مزرعه و ۵۰٪ کود برگ منتقل و در گلخانه نگهداری گردیدند. گیاهچه‌های حاصل در مرحله ۶-۸ برگی با استفاده از همسانه‌های عفونت‌زای سه ویروس BSCTV-IR (Ebadzad Sahraei *et al.* 2008)، BCTIV (موجود در مرکز تحقیقات ویروس‌شناسی گیاهی) و TYLCV-[Ab] (Pakniat Jahromi *et al.* 2010) به روش Agroinoculation مایه‌زنی شدند. این کار با کشت باکتری *Agrobacterium tumefaciens* سویه C58 حاوی همسانه عفونت‌زای هر یک از ویروس‌ها در محیط کشت LB حاوی ۵۰ میکروگرم در میلی لیتر از هر یک آنتی‌بیوتیک‌های کانامیسین و ریفامپیسین و در دمای ۲۸°C در حال تکان خوردن رشد داده شد. مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری با میزان جذب حدود ۱ در طول موج ۶۰۰ نانومتر توسط سرنگ ضدعفونی شده‌ی همیلتون به طوقه و جوانه‌های جانبی گیاهچه‌های سالم در مرحله ی ۶-۸ برگی تزریق شد. تعداد گیاهان مایه‌زنی شده بین ۵ و ۱۵ متغیر بود. گیاهان تزریق شده در فواصل ۲۱ و ۳۵ و ۵۶ روز پس از مایه‌زنی مورد بررسی علائم و نمونه‌برداری قرار گرفتند. پس از استخراج دی‌ان‌ای کل گیاه نسبت به ردیابی ژنوم ویروس‌های مورد مطالعه توسط آزمون PCR با کمک آغازگرهای اختصاصی هر ویروس (جدول ۱) اقدام گردید.

تشخیص ویروس‌ها با استفاده از آزمون واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)

برای استخراج دی‌ان‌ای از گیاه از روش CTAB (Gawel and Jarret 1991) استفاده شد. برای ردیابی ویروس‌ها در گیاهان آلوده، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از جفت آغازگرهای اختصاصی BSCTV-IR، BCTIV و TYLCV-[Ab] (جدول ۱) که به ترتیب قطعاتی به اندازه‌های ۴۹۶، ۶۸۲ و ۱۰۷۱ جفت باز از ژنوم ویروس‌ها را تکثیر می‌کنند انجام گرفت. واکنش PCR در حجم‌های ۲۵ میکرولیتری شامل قالب دی‌ان‌ای استخراج شده از حدود ۴۰۰ میکروگرم بافت برگ، آغازگرها (هر کدام به غلظت ۱ میکرومولار)، چهار داکسی‌نوکلئوتید تری‌فسفات هر یک به غلظت ۲۰۰ میکرومولار، ۱/۵ میلی مولار از کلرید منیزیم ($MgCl_2$)، ۱/۲۵ واحد آنزیم پلی‌مراز *Taq* (شرکت سیناژن، ایران)، انجام گرفت. برنامه PCR شامل یک مرحله تدائی به مدت ۵ دقیقه در دمای

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱. آغازگرهای مورد استفاده در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای تکثیر قطعات ژنوم ویروس‌های مورد مطالعه.

Table 1. Oligonucleotide primers used in PCR for amplification of DNA fragments of studied viruses.

Primers	Nucleotide position[a]	Sequence (5' to 3')	Expected fragment size (bp)
BSCTV-IR358[V]	358-382	GTGGATCAATTTCCAGACAATTATC	496
BSCTV-IR853[C]	829-853	CCCCATAAGACCCATATCAAACTTC	
BCTIV474[V]	474-493	TACAAGAAGTATGGCGGTTC	682
BCTIV1155[C]	1135-1155	AAGAATAGCATTCTCCTTCAC	
TYLCV-[Ab]1543[V]	1543-1566	TTACGTCTTATTGTTTTCTTCTTG	1071
TYLCV-[Ab]2613[C]	2590-2613	CCTCGTCTATTTAAAATATATGCC	

[a] Nucleotide position of BSCTV-IR, BCTIV and TYLCV-[Ab] primers are according to the GenBank database under accession number X97203, JQ707939 and FJ355946, respectively

[V] virion-sense strand primer

[C] complementary-sense strand primer

۹۵°C به منظور واسرشت نمودن دی‌ان‌ای، و یک برنامه ۳۵ چرخه‌ای شامل دمای ۹۵°C به مدت ۳۰ ثانیه، دمای ۵۵°C به مدت ۴۵ ثانیه و دمای ۷۲°C به مدت ۱ دقیقه بود. پس از آخرین چرخه، مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه در ۷۲°C نگهداری گردید. سپس تکثیر قطعات دی‌ان‌ای با الکتروفورز در ژل آگاروز ۱٪ مورد بررسی قرار گرفتند.

نتیجه

شناسائی گیاهان آلوده به ویروس‌ها

از میان گیاهان جمع آوری شده از مزارع چغندرقند، گوجه‌فرنگی، فلفل، اسفناج، لوبیا، شلغم، بادمجان، پنبه و تربچه استان فارس و از میان ۳۳ گونه گیاه (جدول ۲) که با باکتری حاوی همسانه‌های عفونت‌زا سه گونه ویروس BSCTV-IR، BCTIV و TYLCV-[Ab] مایه‌زنی شده بودند گونه‌های آلوده به هر ویروس بر اساس علائم ایجاد شده و آزمون PCR شناسائی شدند. گیاهان آلوده به BSCTV-IR، BCTIV و TYLCV-[Ab] به ترتیب با تکثیر قطعاتی به اندازه‌های ۴۹۶ (شکل ۱A)، ۶۸۲ (شکل ۱B) و ۱۰۷۱ (شکل ۱C) جفت باز شناسائی شدند. ماهیت قطعات تکثیر شده با آغازگرهای اختصاصی هر ویروس قبلاً با تعیین ترادف نوکلئوتیدی آن قطقه تأئید شده است (Ebadzad Sahraei 2007, Ghodoum Parizipour 2011, Pakniat Jahromi *et al.* 2010). بدین ترتیب آلودگی طبیعی نمونه‌های چغندرقند مرودشت، اسفناج ظفرآباد شیراز، فلفل و تربچه کفترک شیراز، اطلسی شیراز، فلفل باجگاه، لوبیا و شلغم سپیدان و بادمجان داراب به BSCTV-IR و نمونه‌های چغندرقند مرودشت و اسفناج ظفرآباد شیراز به BCTIV قطعی شد. بر اساس این نتایج مشخص شد که BSCTV-IR دارای دامنه میزبانی وسیع‌تری در مقایسه با BCTIV در بین نمونه‌های گیاهی جمع‌آوری شده می‌باشد. همانطور که انتظار می‌رفت TYLCV-[Ab] دارای دامنه میزبانی وسیعی نبوده و در این مطالعه فقط آلودگی طبیعی گوجه‌فرنگی به این ویروس محرز گردید. در این بررسی گیاهان متفاوت دارای علائم از قبیل پنبه، پنیرک، تاج‌ریزی، عروسک پشت پرده، لوبیا قرمز، میخک و قرنفل نیز جمع‌آوری شده بودند که آلودگی به سه ویروس مورد مطالعه نشان ندادند. احتمال آلودگی این گیاهان به جمینی ویروس‌های دیگر را نباید از نظر

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲. راندمان آلودگی زایی همسانه‌های عفونت‌زای BSCTV-IR، BCTIV و TYLCV-[Ab] در میزبان‌های آزمایشگاهی.

Table 2. Infection rate of BSCTV-IR, BCTIV and TYLCV-[Ab] infectious clones in tested plants.

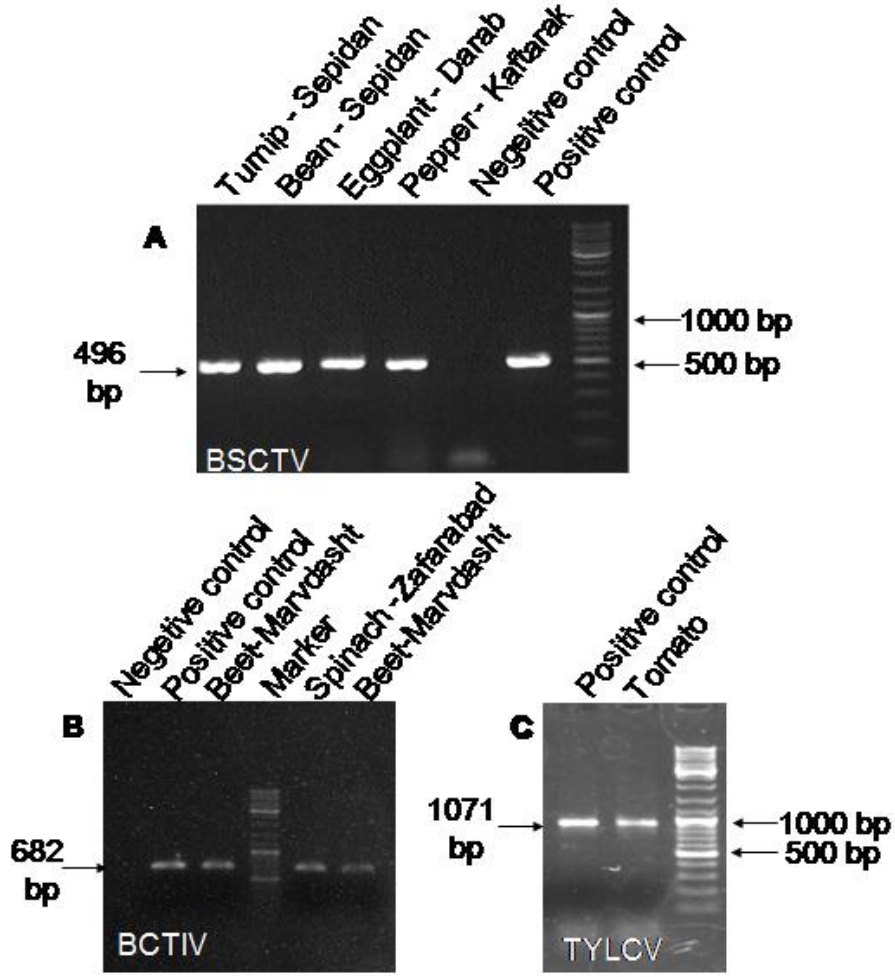
Plant scientific name (common name)	BSCTV-IR		BCTIV		TYLCV-[Ab]	
	No of plants infected/No. of plants inoculated	%	No of plants infected/No. of plants inoculated	%	No of plants infected/No. of plants inoculated	%
Amaranthus retroflexus (redroot pigweed)	3/10	33	2/10	20	5/10	50
Beta vulgaris (sugar beet)	15/15	100	15/15	100	0/15	0
Brassica rapa (turnip)	13/15	87	14/15	93	0/15	0
Capsicum annuum (capsicum)	6/10	60	0/10	0	0/10	0
Capsicum annuum (ornamental chili pepper)	0/5	0	0/5	0	0/5	0
Capsicum frutescens (bird chili)	2/15	13	2/10	20	0/15	0
Chenopodium album	3/10	30	5/10	50	0/10	0
Citrullus lanatus (watermelon)	0/5	0	0/5	0	0/5	0
Coriandrum sativum (coriander)	0/5	0	0/5	0	0/5	0
Cucumis sativus (cucumber)	8/15	53	0/15	0	0/15	0
Cucurbita maxima (pumpkin)	0/5	0	0/5	0	0/5	0
Datura metel	6/10	60	2/10	20	3/10	30
Dianthus barbatus (sweet William)	0/10	0	0/10	0	0/10	0
Dianthus caryophyllus (carnation)	0/10	0	0/10	0	0/10	0
Descurainia sophia (flixweed)	2/3	67	0/3	0	0/3	0
Medicago sativa (alfalfa)	0/5	0	0/5	0	0/5	0
Mirabilis jalapa (four o'clock flower)	0/5	0	0/5	0	0/5	0
Nicotiana benthamiana	4/5	80	2/5	40	5/5	100
Nicotiana glutinosa	3/5	60	2/5	40	5/5	100
Malva parviflora (mallow)	0/3	0	0/3	0	0/3	0
Petunia hybrida (petunia)	15/15	100	15/15	100	10/15	67
Phaseolus vulgaris (red bean)	10/15	67	8/15	53	8/15	53
P. vulgaris (pinto bean)	7/15	47	0/15	0	0/15	0
Physalis heterophylla (ground cherry)	2/5	40	4/5	80	5/5	100
Pisum sativum (pea)	0/15	0	0/15	0	0/15	0
Portulaca oleracea (purslane)	0/5	0	0/5	0	0/5	0
Raphanus sativus (radish)	15/15	100	0/15	0	0/15	0
Spinacia oleracea (spinach)	0/10	0	5/10	50	0/10	0
Solanum lycopersicum (tomato)	12/15	80	13/15	87	15/15	100
Solanum melongena (eggplant)	3/5	60	0/5	0	0/5	0
Solanum nigrum (night shade)	2/4	50	1/4	25	1/4	25
Tropaeolum majus (nasturtium)	15/15	100	15/15	100	15/15	100
Vicia sativa (common vetch)	0/10	0	0/10	0	0/10	0

دور داشت.

از میان ۳۳ گونه گیاه که با باکتری حاوی همسانه عفونت‌زا ویروس‌های مورد مطالعه مایه‌زنی شدند بر اساس ردیابی دی‌ان‌ای ویروس‌ها در گیاهان مایه‌زنی شده ۲۰ گونه به BSCTV-IR، ۱۵ گونه به BCTIV و ۱۰ گونه به TYLCV-[AB] حساس تشخیص داده شدند (جدول ۲). در شرایط این آزمایش میخک، قرنفل، پنیرک، گشنیز، هندوانه، کدو تنبل، یونجه، نخود فرنگی، ماش، لاله عباسی، خرفه و فلفل زینتی با هیچ کدام از سه همسانه عفونت‌زا آلوده نشدند. گونه‌های حساس به TYLCV-[AB] شامل گوجه‌فرنگی، *Nicotiana benthamiana*، *N. glutinosa*، لوبیا قرمز، لادن، اطلسی، تاج‌ریزی، تاج خروس، داتوره و

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱. نقوش الکتروفورزی محصولات PCR تکثیر شده از تعدادی گیاه آلـوده بـه BSCTV-IR (A)، BCTIV (B) و TYLCV- (C) [Ab] بـــه ترتیـــب بـــا اســـتفاده از آغازگرهـــای اختصاصـــی $BSCTV358^{V}$/$BSCTV853^{C}$، $BCTIV474^{V}$/$BCTIV1155^{C}$ و $TYLCVAb1543^{V}$/ $TYLCVAb2613^{C}$ (جدول ۱). در بالای هر راهک به ترتیب نوع میزبان و منطقه نمونه‌برداری شده نشان داده شـده است. (نشانگر: DNA ladder mix, Fermentas).

Fig 1. Electrophoresis pattern of PCR products amplified from BSCTV-IR (A), BCTIV (B) and TYLCV-[Ab] (C) infected plants from different regions as indicated at the top of each lane using specific primer pairs: $BSCTV358^{V}$/$BSCTV853^{C}$, $BCTIV474^{V}$/$BCTIV1155^{C}$ and $TYLCVAb1543^{V}$/$TYLCVAb2613^{C}$ (Table 1), respectively. M = DNA ladder mix (Fermantas).

عروسـک پشـت پـرده بـه BSCTV-IR و BCTIV نیـز حساس بودند. از سوی دیگر فلفـل دلمـه‌ای، خیـار، لوبیـا چیتی، تربچه، بادمجان، و خاکشیر به BSCTV-IR حساس ولی به BCTIV غیر حساس بودند و در مقابل تنها اسفناج به BCTIV حساس و به BSCTV-IR غیـر حسـاس بـود. این در حالی است که آلودگی طبیعـی نمونـه‌هـای اسـفناج ظفرآباد شیراز به BSCTV-IR با انجام آزمون PCR احـراز شد. به نظر می‌رسد که واکنش متفاوت اسفناج در مزرعه و آزمایشگاه به این ویروس به رقم اسفناج مورد اسـتفاده (در مطالعه حاضر از یـک رقـم محلـی اسـفناج در آزمایشـگاه استفاده شد) بستگی داشته باشد. اثبات این فرضیه نیـاز بـه بررسـی‌هـای بیشـتر در سـطح مزرعـه و آزمایشـگاه دارد.

www.SID.ir

Archive of SID

همانطور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود تنها گیاهی که راندمان بیماری‌زایی همسانه‌های عفونت‌زا هر سه ویروس در آن ۱۰۰٪ بود گیاه زینتی لادن بود. به علاوه راندمان بیماری‌زایی BSCTV-IR در گیاهان چغندرقند، تربچه و اطلسی، BCTIV در گیاهان چغندرقند و اطلسی و TYLCV-[AB] در گیاهان گوجه‌فرنگی، عروسک پشت پرده، *N.benthamiana* و *N. glutinosa* ۱۰۰٪ بود. کارائی همسانه‌های عفونت‌زا سه ویروس در آلودگی‌زایی سایر گیاهان میزبان این ویروس‌ها از ۱۳ تا ۹۳ درصد متغیر بود.

علائم گیاهان مایه‌زنی شده با همسانه‌های عفونت‌زا BSCTV-IR، BCTIV و TYLCV-[Ab]

در گیاهان چغندرقند مایه‌زنی شده با BSCTV-IR علائم تیپیک بیماری پیچیدگی بوته (راست ایستادن، تا شدن و لوله شدن برگ‌ها به موازات رگبرگ میانی و تورم رگبرگ‌ها در پشت برگ بخصوص روی رگبرگ اصلی) ۲۱ روز پس از مایه‌زنی بخوبی قابل مشاهده بود (شکل ۲A). این ویروس موجب کاهش شدید رشد بوته نیز گردید. در حالی‌که در همین زمان BCTIV موجب پیچیدگی خفیف برگ‌ها در گیاهچه‌های چغندرقند شد (شکل ۲B). علائم BCTIV، ۳۵ روز پس از مایه‌زنی به مراتب شدیدتر و واضح تر از ۲۱ روز پس از مایه‌زنی بود، هر چند که در این زمان هم به شدت علائم ناشی از BSCTV-IR نبود. بوته‌های تربچه ۲۱ روز پس از مایه‌زنی با BSCTV-IR علائم خفیفی بروز دادند که اغلب به صورت تا شدن جزئی حاشیه برگچه‌ها و بدشکلی در برگ‌های جوان بود (شکل ۲C).

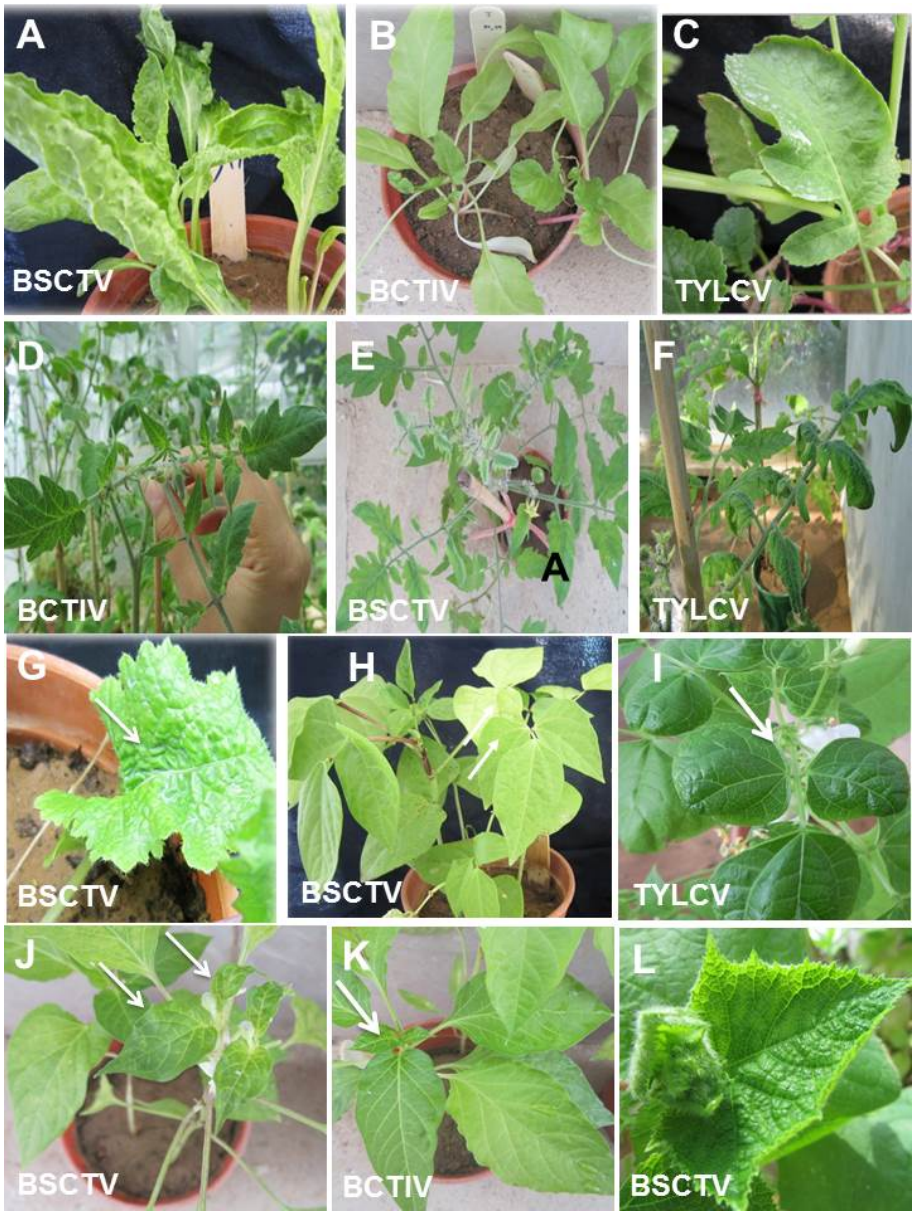
در اثر تزریق همسانه عفونت‌زا هر سه ویروس BSCTV-IR، BCTIV و TYLCV-[Ab] به گوجه‌فرنگی علائمی از قبیل کوچک شدن برگ‌های انتهایی، ایجاد پیچیدگی و زردی در برگ‌ها مشاهده گردید (شکل D, E, F۲). ریز شدن برگ‌های انتهایی و زردی برگ‌ها در بوته‌های گوجه‌فرنگی آلوده به TYLCV-[Ab] نسبت به BSCTV-IR و BCTIV شدیدتر بود. بوته‌های شلغم ۲۱ روز پس از آلودگی به BSCTV-IR علائم خفیفی بروز دادند که اغلب به صورت ایجاد تورم و بدشکلی در برگ‌های جوان بود (شکل ۲G).

BSCTV-IR در لوبیا چیتی ۲۱ روز بعد از تزریق موجب کوچک شدن و ایجاد پیچیدگی در برگ‌های جوان گردید (شکل ۲H). این علائم در لوبیا قرمز به صورت روشن شدن رگبرگ‌ها، کوچک شدن برگ‌های انتهایی، خم شدن برگ‌ها و پیچیدگی آنها بود. BCTIV و TYLCV-[Ab] در لوبیا چیتی علائم خاصی ایجاد نکردند در حالی‌که علائم ناشی از آلودگی به این دو ویروس بر روی لوبیا قرمز دیده شد. TYLCV-[Ab] موجب خم شدن برگ‌های انتهایی لوبیا به سمت پایین و ایجاد رگبرگ روشنی در آنها گردید (شکل ۲I). ۳۵ روز بعد از تزریق BCTIV به لوبیا قرمز پیچیدگی خفیفی در برگ‌ها مشاهده شد.

BSCTV-IR و BCTIV بر روی فلفل سبز و فلفل دلمه علائمی از قبیل زردی رگبرگ‌ها و بدشکلی برگ‌ها ایجاد کردند (شکل ۲J, K) ولی در فلفل زینتی هیچ گونه علائمی مشاهده نشد. علائم ناشی از BSCTV-IR، ۲۱ روز پس از مایه‌زنی به این گیاهان مشاهده گردید در حالی‌که علائم ناشی از BCTIV، ۳۵ روز پس از مایه‌زنی قابل مشاهده بود. علائم ناشی از BSCTV-IR در فلفل سبز به مراتب شدیدتر از علائم BCTIV در این گیاه بود. ۲۱ روز پس از مایه‌زنی BSCTV-IR به خیار زردی خفیف، برجستگی رگبرگ‌ها و تاولی شدن برگ‌های جوان مشاهده گردید (شکل ۲L).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲. علائم ناشی از مایه‌زنی همسانه عفونت‌زا BSCTV, BCTIV و TYLCV-Ab به گیاهان آزمایشگاهی: (A) لوله شدن برگ‌ها به موازات رگبرگ میانی و تورم رگبرگ‌ها در پشت برگ در چغندرقند؛ (B) پیچیدگی خفیف برگ‌های چغندرقند؛ (C) تا شدن جزئی حاشیه برگچه‌ها و بدشکلی برگ‌های تربچه؛ (D، E و F) کوچک شدن برگ‌های انتهایی، پیچیدگی و زردی برگ‌ها در گوجه‌فرنگی؛ (G) تورم و بدشکلی شلغم؛ (H) کوچک شدن و ایجاد پیچیدگی در برگ‌های جوان لوبیا چیتی؛ (I) رگبرگ روشنی، کوچک شدن برگ‌های انتهایی و پیچیدگی برگ‌های لوبیا قرمز؛ (K و J) زردی رگبرگ‌ها و بدشکلی برگ‌های فلفل سبز؛ (L) زردی خفیف و تاولی شدن برگ‌های جوان خیار.

Fig 2. Symptoms induced by BSCTV, BCTIV and TYLCV-[Ab] infectious clones in experimentally agroinoculated plants showing (A) inward rolling of leaves and vein swelling in sugar beet; (B) mild leaf curling in sugar beet; (C) mild inward rolling of the leaflet margins and deformation of leaves in radish; (D, E and F) tomato plants showing reduced size of young leaves and yellowing and curling of the leaves; (G) deformation and blistering of a turnip leaf infected with BSCTV; (H) reduced size and curling of young leaves in pinto bean; (I) vein clearing, small leaves and leaf curling in red bean; (J and K) vein yellowing and deformation of young leaves in green pepper; (L) mild yellowing and blistering of leaves in cucumber.

www.SID.ir

Archive of SID

در بوته‌های اسفناج آلوده به BCTIV، ۳۵ روز بعد از مایه‌زنی بد شکلی و پیچیدگی برگ‌ها، تاشدن برگ‌های جوان به طرف داخل و خمیدگی برگ‌های قدیمی‌تر به سمت پایین ایجاد شد (شکل ۳A). هر سه ویروس *N. benthamiana* و *N. glutinosa* را آلوده نموده و علائمی از قبیل پیچیدگی و قاشقی شدن برگ‌ها، ریزشدن برگ‌های انتهائی بوته و زردی در آنها ایجاد نمودند (شکل ۳B).

در بین گیاهان زینتی پس از گذشت ۲۱ روز از تزریق BSCTV-IR و BCTIV برجستگی رگبرگ‌ها و پیچیدگی در برگ‌های لادن مشاهده گردید. در بوته‌های لادن آلوده به TYLCV-[Ab] لکه‌های کلروتیک نیز ایجاد شد (شکل ۳C). علائم هر سه ویروس ذکر شده در گیاه اطلسی به صورت کاهش شدید رشد، زردی بین رگبرگ‌ها و پیچیدگی خفیف برگ‌ها بود (شکل ۲D, E). با این تفاوت که زمان ظهور علائم در بوته‌های آلوده به TYLCV-[Ab] به مراتب دیرتر از دو ویروس دیگر بود.

در تاج‌ریزی کاهش رشد بوته‌های آلوده به BSCTV-IR نسبت به گیاه شاهد بسیار قابل توجه بود (شکل ۳F)، همچنین در بوته‌های داتوره آلوده به TYLCV-[Ab] بدشکلی و پیچیدگی برگ‌ها مشاهده شد (شکل ۳G). در بوته‌های تاج خروس آلوده به BSCTV-IR پیچیدگی برگ‌ها و برجستگی رگبرگ‌ها دیده شد. علائم ناشی از BSCTV-IR، ۲۱ روز پس از مایه‌زنی در بوته‌های تاج خروس مشاهده شد، ولی علائم مربوط به BCTIV حتی ۵۶ روز بعد از مایه‌زنی قابل ملاحظه نبود. ۵۶ روز پس از تزریق TYLCV-[Ab] به بوته‌های تاج خروس وحشی پیچیدگی خفیف برگ‌ها، اندکی زردی و کاهش رشد بوته مشاهده گردید (شکل ۳H).

از ۱۵ میزبان آزمایشگاهی BSCTV-IR، تعداد پنج گونه شامل سلمه‌تره، بادمجان، داتوره، عروسک پشت پرده و خاکشیر آلودگی بدون علائم داشتند. از نه گونه گیاه حساس به BCTIV، شش گونه گیاه شامل شلغم، سلمه‌تره، تاج‌ریزی، داتوره، عروسک پشت پرده و تاج خروس و از ۱۰ میزبان آزمایشگاهی TYLCV-[Ab]، چهار گونه علف هرز شامل تاج‌ریزی، عروسک پشت پرده، داتوره و تاج خروس بعد از مایه‌زنی علائمی نشان ندادند ولی آزمون PCR نشان داد که حاوی دی‌ان‌ای ویروس هستند (جدول ۲).

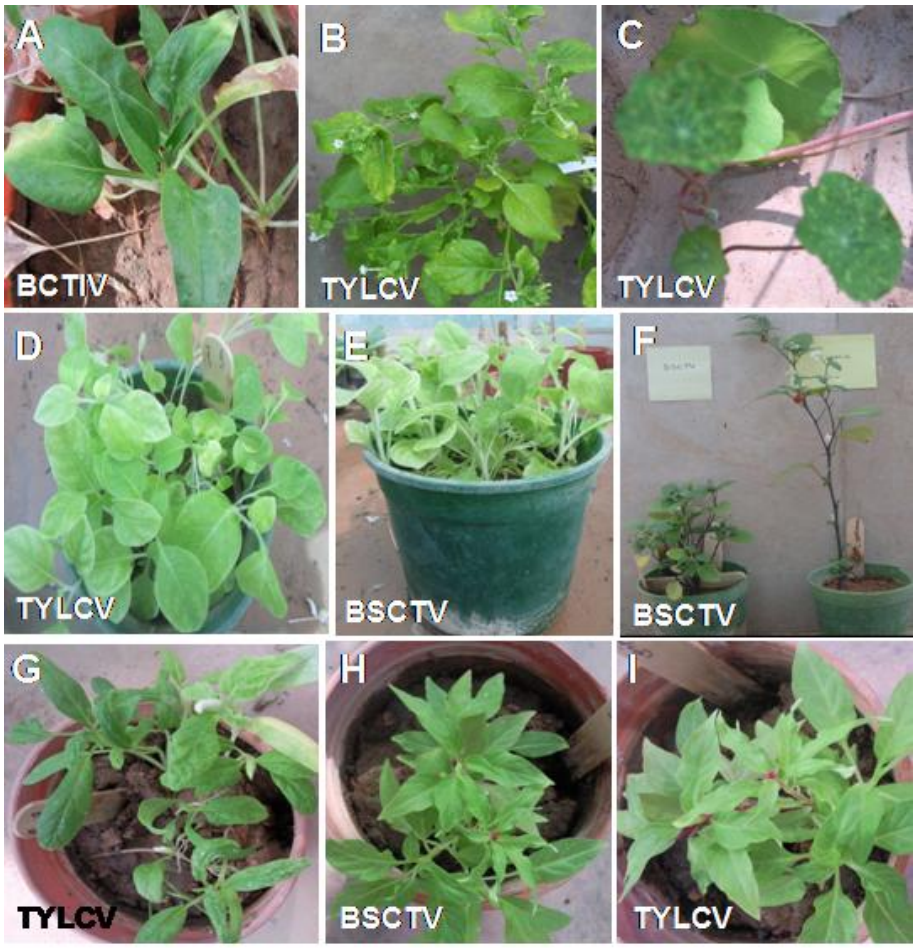
با وجود اینکه گیاهانی از قبیل نخودفرنگی، ماش، یونجه، گشنیز، کدو تنبل و هندوانه میزبان‌های احتمالی ویروس‌های عامل بیماری پیچیدگی بوته چغندرقند هستند اما در اثر تزریق سه ویروس BCTIV ، TYLCV-[Ab] و BSCTV-IR به این گیاهان هیچ گونه علائمی مشاهده نشد و با انجام آزمون PCR دی‌ان‌ای هیچ کدام از ویروس‌ها در آنها ردیابی نگردید. ممکن است عدم آلودگی این گیاهان در آزمایشگاه به ویروس‌های مورد مطالعه به رقم مورد استفاده بستگی داشته باشد. واکنش ارقام این گیاهان و سایر میزبان‌ها به این ویروس‌ها نیاز به بررسی‌های بیشتر در سطح آزمایشگاه دارد.

بحث

تشخیص BCTV در ایران در گذشته بر اساس نوع علایم در چغندرقند و نحوه انتقال آن بوده است (Izadpanah 1982). بتدریج با کمک روش‌های سرولوژیکی، الکترون میکروسکوپی و مولکولی تشخیص بیماری و عامل به وجود آورنده آن در میزبان‌های متنوع امکان پذیر شده است. *آل یاسین و همکاران* در سال ۱۳۷۴ با استفاده از یک آنتی‌سرم جدایه آمریکایی BCTV در آزمایش سرولوژیکی الیزا (ELISA)، ۲۳ گونهٔ گیاهی را از بین ۲۹ گونه گیاه زراعی و زینتی از ۱۰ خانواده گیاهی و

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳. علائم ناشی از مایه‌زنی همسانه عفونت‌زا BCTIV, BSCTV و TYLCV-Ab به گیاهان آزمایشگاهی: (A) بدشکلی و پیچیدگی برگ‌ها و تا شدن برگ‌های جوان به طرف داخل در اسفناج؛ (B) ریز شدن برگ‌های انتهائی، پیچیدگی و زردی برگ‌ها در یک بوته *N. benthamiana* ؛ (C) لکه‌های کلروتیک در برگ‌های لادن؛ (D و E) کاهش شدید رشد، زردی بین رگبرگ‌ها و پیچیدگی خفیف برگ‌های اطلسی؛ (F) کوتولگی شدید تاج‌ریزی در مقایسه با بوته سالم؛ (G) بد شکلی و پیچیدگی برگ‌های داتوره؛ (H) پیچیدگی برگ‌های انتهایی بوته در تاج خروس آلوده به BSCTV؛ (I) پیچیدگی و زردی خفیف برگ‌ها در بوته تاج خروس آلوده به TYLCV.

Fig 3. Symptoms induced by BSCTV, BCTIV and TYLCV-[Ab] infectious clones in experimentally agroinoculated plants showing (A) curling and deformation of leaves and inward rolling of young leaves in spinach agroinoculated with BCTIV; (B) A *N. benthamiana* plant showing small crumpled and upward curled yellow leaves; (C) Chlorotic spots on the leaves of an infected nasturtium plant; (D and E) Petunia plants showing interveinal chlorosis, slight leaf curling and severe stunting; (F) A TYLCV-infected nightshade plant showing severe stunting on the right compared to a healthy plant on the left; (G) curling and deformation of leaves in datura; (H) curling and deformation of young leaves in BSCTV-infected tumbleweed plants, (I) mild yellowing and curling of leaves in TYLCV-infected tumbleweed plants.

۲۹ گونه علف هرز از ۱۲ خانواده گیاهی به عنوان میزبان‌های جدید BCTV از استان فارس گزارش کردند (Ale-Yassin *et al.* 1995). در گزارش دیگری با انجام آزمایش‌های مشابه *آل یاسین و ایزدپناه* (1995) اعلام کردند که همه علایم کوتولگی، پیچیدگی و بدشکلی در گیاهان چغندرقند مربوط به BCTV نمی‌باشد.

حیدرنژاد و همکاران (Heydarnejad *et al.* 2007)، با استفاده از یک آنتی‌سرم جدایه ایرانی BCTV در آزمایش

www.SID.ir

Archive of SID

الیزا، علاوه بر چغندرقند در اسفناج، لوبیا، یونجه و سه محصول گلخانه‌ای کدو، خیار و گوجه‌فرنگی، موفق به ردیابی BCTV در ۱۱ گونه علف هرز از هشت خانواده گیاهی گردیدند که تمام علف‌های هرز آلوده بدون علایم بودند. بیشترین میزان آلودگی در دو گونه علف هرز *Salsola kali* و *Chenopodium album* از خانواده Chenopodiaceae گزارش شد (Heydarnejad *et al.* 2007).

این گزارش‌ها مربوط به زمانی بوده است که گونه‌های ویروسی ایجادکننده بیماری پیچیدگی بوته چغندرقند از هم تفکیک نشده بودند. همانطور که ذکر شد تاکنون دو گونه *Beet severe curly top virus* و *Beet curly top virus Iran* به ترتیب از جنس‌های *Curtovirus* و *Becurtovirus* از ایران گزارش شده‌اند (Behjatnia *et al.* 2011, Briddon *et al.* 1998, BolokYazdi *et al.* 2008). با توجه به اهمیت این دو ویروس در اپیدمیولوژی بیماری پیچیدگی بوته چغندرقند و سایر گیاهان دو لپه‌ای و خسارت‌های ناشی از آنها مطالعه میزبان‌های BSCTV و BCTV به تفکیک مهم بنظر می‌رسد. با تعیین ترادف ژنوم کامل BCTV (Bolok Yazdi *et al.* 2008) و جدایه ایرانی BCTV (Briddon *et al.* 1998) و طراحی آغازگرهای کاملاً اختصاصی هر گونه امکان ردیابی این ویروس‌ها به طور جداگانه در آلودگی‌های طبیعی میسر گردیده است. بر همین اساس طی مطالعاتی که تاکنون در زمینه تعیین میزبان‌های طبیعی BSCTV-IR و BCTV صورت گرفته است (Anabestani 2011, Bolok Yazdi *et al.* 2008, Ebadzad Sahraei 2007, Gharouni Kardani *et al.* 2013, Ghodoum Parizipour 2011)، آلودگی طبیعی میزبان‌های زراعی مانند چغندرقند، شلغم، فلفل، گوجه‌فرنگی، لوبیا معمولی، اسفناج، گیاه زینتی اطلسی و علف‌های هرز تاج خروس، سلمه‌تره، پیچک صحرایی، داتوره، عروسک پشت پرده و تاج‌ریزی به هر دو ویروس به طور جداگانه محرز شده است در حالی‌که آلودگی طبیعی چغندر لبویی، تربچه، بادمجان و علف هرز خاک شیر تنها به BSCTV-IR و آلودگی طبیعی چغندر دریائی و لوبیا چشم بلبلی تنها به BCTIV تشخیص داده شده است (جدول ۳). در همین حال آلودگی مخلوط و هم‌زمان هر دو ویروس در چغندرقند، اطلسی و علف هرز تاج خروس نیز گزارش شده است (Ebadzad Sahraei 2007). آلودگی هم‌زمان این گیاهان و احتمالاً میزبان‌های دیگر به BSCTV-IR و BCTIV نه تنها نمودار فقدان دگرپادی (cross protection) در آنها می‌باشد بلکه می‌تواند یک پیش‌نیاز برای نوترکیبی بین آنها و ظهور گونه‌های جدید باشد (Garcia-Andres and Navas-Catillo, 2007).

با ساخته شدن همسانه عفونت‌زا دو گونه BSCTV-IR و BCTIV در ایران امکان مطالعه میزبان‌های آزمایشگاهی‌های آنها به تفکیک فراهم شده است. بر همین اساس *سلیمانی و همکاران* (Soleimani *et al.* 2012)، مطالعاتی در زمینه ناقل و دامنه میزبانی گونه BCTIV انجام دادند و در این تحقیقات ضمن ساخت همسانه عفونت‌زا جدایه سیوند BCTIV موفق به اجرای اصول کخ بر روی این ویروس گردیدند. در این تحقیق گیاهان چغندرقند، اسفناج، فلفل، داتوره، *Nicotiana benthamiana* و گوجه‌فرنگی به عنوان میزبان‌های آزمایشگاهی BCTIV معرفی شدند (Soleimani *et al.* 2012). هم‌زمان *حیدرنژاد و همکاران* (Heydarnejad *et al.* 2013a) نسبت به ساخت همسانه عفونت‌زا جدایه دیگری از BCTIV با نام BCTIV-[IR: Neg: B33P: Sug: 08] و انجام اصول کخ اقدام کردند و نتیجه‌گیری نمودند که ژنوم یک بخشی BCTIV برای ایجاد آلودگی کافی است.

در مطالعه حاضر نیز با استفاده از همسانه‌های عفونت‌زا

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳. میزبان‌های طبیعی BSCTV و BCTIV گزارش شده از ایران.

Table 3. Natural hosts of BSCTV and BCTIV reported from Iran.

Plant scientific name (common name)	BSCTV	BCTIV	Reference
Amaranthus retroflexus (redroot pigweed)	+	+	(Anabestani 2011, Ebadzad Sahraei 2007)
Beta vulgaris (sugar beet)	+	+	(Anabestani 2011, Ebadzad Sahraei 2007, Gharouni Kardani *et al.* 2013, Ghodoum Parizipour 2011 and present study)
Beta vulgaris var. *esculenta* (red beet)	+	NF	(Ghodoum Parizipour 2011)
Beta vulgaris subsp. *maritima*	NF	+	(Gharouni Kardani *et al.* 2013)
Brassica campestris (turnip)	+	+	(Anabestani 2011, Ghodoum Parizipour 2011 and present study)
Capsicum frutescens (bird chili)	+	+	(Anabestani 2011, Ebadzad Sahraei 2007, Ghodoum Parizipour 2011 and present study)
Chenopodium album	+	+	(Anabestani 2011, Ghodoum Parizipour 2011)
Convolvulus arvensis (field bindweed)	+	+	(Anabestani 2011)
Datura sp.	+	+	(Ebadzad Sahraei 2007, Ghodoum Parizipour 2011)
Descurainia sophia (flixweed)	+	NF	(Anabestani 2011)
Petunia hybrida	+	+	(Anabestani 2011, Ebadzad Sahraei 2007, Ghodoum Parizipour 2011 and present study)
Phaseolus vulgaris (red bean)	+	+	(Anabestani 2011, Gharouni Kardani *et al.* 2013 و Ghodoum Parizipour 2011)
Physalis sp.	+	+	(Anabestani 2011, Ebadzad Sahraei 2007)
Raphanus sativus (radish)	+	NF	(Anabestani 2011 and present study)
Spinacia oleracea (spinach)	+	+	(Ghodoum Parizipour 2011 and present study)
Solanum lycopersicum (tomato)	+	+	(Anabestani 2011, Gharouni Kardani *et al.* 2013, Ghodoum Parizipour 2011)
Solanum melongena (eggplant)	+	NF	(Anabestani 2011 and present study)
Solanum nigrum (night shade)	+	+	(Anabestani 2011)
Vigna unguiculata (cowpea)	NF	+	(Gharouni Kardani *et al.* 2013)

NF: Not found

BSCTV-IR و BCTIV نسبت به میزبان‌های آزمایشگاهی این دو گونه به تفکیک در بین گیاهانی که بذر آنها برای تهیه گیاهچه در دسترس بود تعیین شد (جدول ۱). با توجه به نتایج به دست آمده در تحقیقات گذشته (Heydarnejad *et al.* 2013a, Soleimani *et al.* 2012) و مطالعه حاضر می‌توان گفت بیشتر میزبان‌های آزمایشگاهی BSCTV-IR و BCTIV جز خانواده‌های Solanaceae، Brassicaceae، Fabaceae و Amaranthaceae می‌باشند، هرچند که گونه BSCTV دارای دامنه میزبانی وسیع‌تری است. این تحقیقات نشان داد که شدت علائم پیچیدگی بوته چغندرقند بر حسب گونه ویروس و میزبان گیاهی متغیر است و معمولاً BCTIV علائم خفیف‌تری در میزبان‌های مشابه در یک زمان واحد بعد از مایه‌زنی نسبت به BSCTV ایجاد می‌نماید.

تاکنون سه گونه و شش سویه از TYLCV TLCV به عنوان عوامل اصلی ایجاد بیماری پیچیدگی برگ زرد گوجه‌فرنگی در ایران شناسایی شده‌اند که دو گونه TYLCV (Pakniat Jahromi *et al.* 2010) و جدایه ایرانی

www.SID.ir

Archive of SID

ویروس کاراناتاکا پیچیدگی برگ گوجه‌فرنگی، ToLCKV-IR (Behjatnia *et al.* 2009) دارای ژنوم تک بخشی و جدایه ایرانی ویروس Tomato leaf curl Palampur virus (ToLCPMV-IR) (Heydarnejad *et al.* 2013b) دارای ژنوم دو بخشی است. جدایه آباده TYLCV (TYLCV-[Ab]) یک جدایه شدید TYLCV محسوب می‌شود (Behjatnia *et al.* 2011, Pakniat Jahromi *et al.* 2010).

با توجه به اهمیت TYLCV-[Ab] در ایران در این تحقیق سعی شده است که میزبان‌های آزمایشگاهی این ویروس شناسایی گردند. لازم به ذکر است که تنها گوجه‌فرنگی به عنوان میزبان طبیعی این ویروس تعیین شد. در حالی‌که گیاهان گوجه‌فرنگی، خیار، طالبی، کدو، هندوانه و لوبیا به عنوان میزبان‌های ToLCPMV-IR در کشت‌های گلخانه‌ای و یا مزرعه‌ای این محصولات معرفی و کدو، هندوانه، لوبیا و دو علف هرز *Heliotropium europaeum* و *Chenopodium* sp. به عنوان میزبان‌های جدید ToLCPMV گزارش شده است (Heydarnejad *et al.* 2013b).

از میان ۳۳ گونه گیاهان مایه‌زنی شده با باکتری حاوی همسانه عفونت‌زا TYLCV-[Ab] به منظور تعیین میزبان‌های آزمایشگاهی، این ویروس تنها در ۱۰ گونه گیاهی ردیابی شد. هشت گونه گیاه شامل گوجه‌فرنگی، *Nicotiana benthamiana*، *N. glutinosa*، لوبیا قرمز، لادن، اطلسی، تاج خروس و داتوره (*Datura metella*) بعد از مایه‌زنی با این ویروس علائم نشان دادند که در بخش نتایج به آنها اشاره شد. دو گونه علف هرز مایه‌زنی شده شامل تاج‌ریزی و عروسک پشت پرده علائمی نشان ندادند ولی آزمون PCR نشان داد که حاوی دی‌ان‌ای ویروس هستند. لوبیا قرمز، لادن، اطلسی، تاج خروس، داتوره، تاج‌ریزی و عروسک پشت پرده میزبان‌های این ویروس هستند که تاکنون شناسایی نشده بودند. در مطالعه دیگری *بهجت‌نیا و همکاران* (Behjatnia *et al.* 2009) نسبت به شناسایی تعدادی از میزبان‌های آزمایشگاهی گونه ToLCKV-IR اقدام نمودند. طبق این گزارش از میان ۱۳ گونه گیاه مایه‌زنی شده با باکتری حاوی همسانه عفونت‌زا ToLCKV-IR، این ویروس تنها در پنج گونه گیاهی گوجه‌فرنگی، داتوره (*Datura stramonium*)، توتون معمولی (*N. tabacum* var. Turkish)، *N. glutinosa* و *N. benthamiana* ردیابی شد که از بین آنها تنها گوجه‌فرنگی و *N. benthamiana* علائم نشان دادند و بقیه بدون علائم بودند. در مابقی گیاهان مایه‌زنی شده شامل فلفل دلمه‌ای، بادمجان، لوبیا معمولی، لوبیا چشم بلبلی، بافلا، خیار، خربزه، کدو و *Chenopodium quinoa* ویروس ردیابی نشد. این مطالعات نشان می‌دهد که هر دو ویروس TYLCV-[Ab] و ToLCKV-IR که به ترتیب یک گونه شدید و یک گونه ملایم از T(Y)LCVs محسوب می‌شوند دارای میزبان‌های کمی هستند که اغلب به خانواده Solanaceae محدود می‌شوند.

منابع

Adams M. J., King A. M. Q. and Carstens E. B. 2013. Ratification vote on taxonomic proposals to the International Committee on Taxonomy of Viruses. Archives of Virology 158: 2023-2030.

Ale-Yassin K. and Izadpanah K. 1995. Electron microscopical and serological identification of Beet curly top virus (BCTV) and its relation to symptoms observed in various plants in Fars. Proceedings of the 12th Iranian Plant Protection Congress. P. 124.

Ale-Yassin K., Izadpanah K. and Khosravi A. R. 1995. New hosts of beet curly top virus (BCTV). Proceedings of

www.SID.ir

Archive of SID

the 12th Iranian Plant Protection Congress. P. 125.

Anabestani A. 2012. Prevalence of beet curly top viruses and expression of coat protein of Beet curly top Iran virus. M.Sc. Thesis, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran.

Behjatnia S. A. A., Eini Gandomani O. and Rasoulpour R. 2009. Infectivity of the cloned genome, transmission and host range of an Iranian isolate of tomato leaf curl geminivirus. Iranian Journal of Plant Pathology 45:47-59

Behjatnia S. A. A., Izadpanah K. and Afsharifar A. 2011. The status of geminivirus species in Iran. 1st Plant Virologists Symposium. Shiraz University, Shiraz, Iran.

Bennett C. W. 1971. The curly top disease of sugarbeet and other plants. American Phytopathological Society. Monograph 81 pp.

Bolok Yazdi H. R., Heydarnejad J. and Massumi H. 2008. Genome characterization and genetic diversity of Beet curly top Iran virus: a geminivirus with a novel nonanucleotide. Virus Genes 36: 539-545.

Briddon R.W., Stenger D. C., Bedford I. D., Stanley J., Izadpanah K. and Markham P. G. 1998. Comparison of a beet curly top virus isolate originating from the old world with those from the New World. European Journal of Plant Pathology 104: 77-84.

Brown J. K., Fauquet C. M., Briddon R. W., Zerbini M., Moriones E. and Navas-Castillo J. 2012. *Geminiviridae*, pp. 351-373. In: A. M. Q. King, M. J. Adams, E. B. Carstens and E. J. Lefkowitz (Eds). Virus Taxonomy, Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier/Academic Press, London.

Czosnek, H. 2007. Tomato yellow leaf curl virus disease: Management, molecular biology, breeding for resistance. Springer, Dordrecht, The Netherlands, 448 p.

Ebadzad Sahraei G. 2007. Molecular characterization of Iranian isolates of beet curly top virus. M.Sc. Thesis, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran.

Ebadzad Sahraei G., Behjatnia S. A. A. and Izadpanah K. 2008. Infectivity of the cloned genome of Iranian isolate of Beet severe curly top virus in experimental hosts. Iranian Journal of Plant Pathology 44: 176-183.

Gawel N. J. and Jarret R. L. 1991. A modified CTAB DNA extraction procedure for *Musa* and *Ipomoea*. Plant Molecular Biology Reporter 9: 262-266.

Gharouni Kardani S., Heydarnejad J., Zakiaghl M., Mehrvar M., Kraberger S. and Varsani A. 2013. Diversity of beet curly top Iran virus isolated from different hosts in Iran. Virus Genes 46: 571-575.

Ghodoum Parizipour M. H. 2011. Distribution of viruses causing sugar beet curly top disease and the effect of temperature on recovery of Beet severe curly top virus-infected plants. M.Sc. Thesis, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran.

Gibson E. 1967. Possible incidence of curly top in Iran, a new record. Plant Disease Reporter 55: 85-86.

Heydarnejad J., Hosseini Abhari E., Bolok Yazdi H. R. and Massumi H. 2007. Curly top of cultivated plants and weeds and report of a unique *Curtovirus* from Iran. Journal of Phytopathology 155: 321-325.

Heydarnejad J., Keyvani N., Razavinejad S., Massumi H. and Varsani A. 2013a. Fulfilling Koch's postulates for beet curly top Iran virus and proposal for consideration of new genus in the family *Geminiviridae*. Archives of Virology 158: 435-443.

Heydarnejad J., Hesari M., Massumi H. and Varsani A. 2013b. Incidence and natural hosts of Tomato leaf curl Palampur virus in Iran. Australasian Plant Pathology 42: 195-203.

Izadpanah K. 1967. Incidence of a new disease in sugar beet fields in Fars province. Iranian Journal of Plant Pathology 4: 28-29.

Izadpanah K. 1982. 'An annotated list of virus and virus-like diseases of plants in fars.' (Shiraz University: Shiraz, Iran) [In Persian].

Kharazmi S., Behjatnia S. A. A., Hamzezarghani H. and Niazi A. 2012. Cotton leaf curl Multan betasatellite as a plant gene delivery vector trans-replicated by taxonomically diverse geminiviruses. Archives of Virology 157: 1269-1279.

Pakniat Jahromi A., Behjatnia S. A. A., Kharazmi S., Shahbazi M. and Izadpanah K. 2010. Molecular characterization and construction of an infectious clone of a new dominant strain of Tomato yellow leaf curl virus in southern Iran. Iranian Journal of Plant Pathology 46: 101-115.

Severin H. H. P. 1929. Additional host plants of curly top. Hilgardia 3: 595-636.

Soleimani R., Matic S., Taheri H., Behjatnia S. A. A., Vecchiati M., Izadpanah K. and Accotto G. P. 2012. The

www.SID.ir

Archive of SID

unconventional geminivirus *Beet curly top Iran virus*: satisfying Koch's postulates and determining vector and host range. Annals of Applied Biology 162: 174-181.

Stenger D. C. 1998. Replication specificity elements of the Worlad strain of beet curly top virus are compatible with those of the CFH strain but not those of the Cal/Logan strain. Phytopathology 88: 1174-1178.

Stenger D. C. and McMahon C. L. 1997. Genotypic diversity of beet curly top virus populations in the western United States. Phytopathology 87: 737-744.

Šutić D. D., Ford R. E. and Tošić M. T. 1999. Handbook of plant virus diseases. CRC Press. 584 p.

Varsani A., Martin D. P., Navas-Castillo J., Moriones E., Herna´ndez-Zepeda C., Idris A., Murilo Zerbini F. and Brown J. K. 2014a. Revisiting the classification of curtoviruses based on genome-wide pairwise identity. Archives of Virology 159: 1873-1882.

Varsani A., Navas-Castillo J., Moriones E., Herna´ndez-Zepeda C., Idris A., Brown J. K., Murilo Zerbini F. and Martin D. P. 2014b. Establishment of three new genera in the family *Geminiviridae*: *Becurtovirus*, *Eragrovirus* and *Turncurtovirus*. Archives of Virology 159: 2193-2203.

www.SID.ir