انتقال و میزبان‌های طبیعی ویروس پیچیدگی برگ شلغم*

TRANSMISSION AND NATURAL HOSTS OF TURNIP CURLY TOP VIRUS

سارا رضوی نژاد و جهانگیرحیدرنژاد[۱]**

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۲/۲۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۹/۱۳)

چکیده

ویروس پیچیدگی برگ شلغم (Turnip curly top virus, TCTV) یک جمینی ویروس جدید است که اخیراً از مزارع شلغم استان فارس گزارش شده است. از آنجا که این ویروس از نظر سازمان‌دهی ژنوم از سایر جمینی ویروس‌ها متفاوت است، هنوز بسیاری از ویژگی‌های بیولوژیکی آن از جمله ناقل و سایر میزبان‌های طبیعی آن مورد مطالعه قرار نگرفته است. به منظور شناسایی ناقل TCTV در شرایط آزمایشگاهی، توانایی زنجرک‌های *Circulifer haematoceps* و *Orosius albicinctus* در انتقال ویروس، مورد بررسی قرار گرفت. نتیجه این مطالعه نشان داد که زنجرک *C. haematoceps* با راندمان بالائی در شرایط گلخانه ویروس عامل بیماری را از گیاهان آلوده به بوته های سالم انتقال می‌دهد. آلودگی گیاهان با ایجاد علائم مشخص بیماری شامل پیچیدگی شدید برگ‌ها به سمت بالا و تورم رگبرگ‌ها در پشت برگ‌ها و تشخیص وجود ویروس در گیاهان آلوده با استفاده از آزمون PCR به اثبات رسید. برای تعیین سایر میزبان‌های طبیعی TCTV، نمونه‌های گیاهی شامل گیاهان زراعی و علف‌های هرز از اطراف و داخل مزارع به‌شدت آلوده شلغم جمع‌آوری و آلودگی گیاهان با تشخیص وجود ویروس در آنها با استفاده از آزمون PCR و دو جفت آغازگر اختصاصی مورد بررسی قرار گرفت. بر این اساس، از میان نمونه‌ها، تنها آلودگی طبیعی تربچه با علائم پیچیدگی برگ و سبزردی و علف‌های هرز خاکشیر، گاوزبان کوچک، تاجریزی سیاه و گل یک ساعتی (بامیه سه شاخ) که همگی بدون علائم مشخصی بودند، اثبات گردید. به منظور مقایسه جدایه تربچه با جدایه‌های شلغم TCTV، ژنوم کامل جدایه تربچه توسط آنزیم فی دی اِن اِ پلی مراز به روش دایره غلتان تکثیر و بعد از همسانه‌سازی، تعیین ترادف گردید. مقایسه توالی کامل ژنوم جدایه تربچه با ژنوم جدایه‌های شلغم موجود در بانک جهانی ژن نشان داد که میزان شباهت آن با سایر جدایه‌ها ۹۹-۹۳ درصد است. این نتایج نشان می‌دهد که TCTV بر خلاف اکثر کرتوویروس ها دارای دامنه میزبانی محدودی در طبیعت است.

واژه‌های کلیدی: جمینی ویروس، کرتوویروس، تکثیر به روش دایره غلتان، *Circulifer haematoceps*، انتقال ویروس

---

*: بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول، ارایه شده به دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

**: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: jheydarnejad@mail.uk.ac.ir

۱. به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و دانشیار بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

مقدمه

جمینی ویروس‌ها تیره بزرگ و متنوعی از ویروس‌های گیاهی را تشکیل می‌دهند که در طبیعت به طیف گسترده‌ای از گیاهان حمله کرده و باعث خسارت‌های قابل ملاحظه‌ای در محصولات مهم زراعی می‌شوند.

به دلیل قدمت کشاورزی در خاورمیانه و آفریقا، طی چند سال گذشته جمینی ویروس‌های بسیار متفاوتی در این مناطق شناسایی شده‌اند. اولین آنها، ویروس ایرانی پیچیدگی برگ چغندرقند (*Beet curly top Iran virus*, BCTIV) است (Heydarnejad *et al.* 2007) که اخیراً به عنوان عضو قطعی جنس کرتوویروس در نظر گرفته شده است (Brown *et al.* 2012). این ویروس از لحاظ نحوه سازماندهی ژنوم، متفاوت از سایر کرتوویروس‌های عامل پیچیدگی برگ چغندر قند است (Bolok Yazdi *et al.* 2008). جمینی‌ویروس متفاوت دیگری به نام *Eragrostis curvula streak virus* از روی یک علف‌هرز تک‌لپه از آفریقای جنوبی گزارش شده است (Varsani *et al.* 2009). ویروس پیچیدگی برگ شلغم یکی دیگر از جمینی‌ویروس‌های منحصر به فردی است که اخیرا از مزارع شلغم استان فارس گزارش شده است (Briddon *et al.* 2010).

اولین بار علائم TCTV در سال ۱۳۸۵ در مزارع شلغم (*Brassica rapa* L.) منطقه ظفرآباد، واقع در ۲۰ کیلومتری جنوب شیراز و سپس شیوع گسترده آن در منطقه همایجان واقع در ۵۰ کیلومتری غرب شیراز مشاهده شد. این علائم شامل پیچیدگی شدید، فنجانی شدن، ترد و ضخیم شدن برگ‌ها، متورم شدن رگبرگ‌ها در پشت برگ و ترشح شیره گیاهی از دمبرگ و رگبرگ‌ها می‌باشد

به رغم ویژگی‌های منحصر به فرد ژنوم TCTV در میان تمام جمینی‌ویروس‌ها و خسارت شدید آن در مزارع شلغم، هنوز مطالعات زیادی روی ویژگی‌های بیولوژیکی این ویروس صورت نگرفته است و اطلاعاتی در مورد مناطق انتشار آن در ایران و سایر نقاط دنیا، میزبان یا میزبان‌های احتمالی ویروس و ناقل آن در دست نیست. به عنوان نمونه شلغم تنها میزبان شناخته شده TCTV در ایران است. در این مطالعه شناسایی ناقل TCTV در شرایط گلخانه و چند میزبان طبیعی آن مورد بررسی قرار گرفته است.

روش بررسی

جمع‌آوری و تغذیه زنجرک‌ها

به منظور بررسی انتقال TCTV، زنجرک‌های *Circulifer haematoceps* (Mulsant and Rey) و *Orosius albicinctus* (Distant) هر دو از خانواده *Cicadellidae* انتخاب شدند. دلیل انتخاب این دو زنجرک، توانایی آنها در انتقال دو جمینی ویروس به ترتیب BCTIV و ویروس کوتولگی سبزرد نخود ایرانی (Chickpea chlorotic dwarf virus) در ایران بود (Hosseini Abhari *et al.* 2005; Farzadfar *et al.* 2008). این دو زنجرک از مزارع کشت کنجد سیرجان واقع در ۱۸۰ کیلومتری جنوب کرمان با روش تورزنی جمع‌آوری شدند. برای شناسایی زنجرک *C. haematoceps* در سطح جنس از مشخصات ارائه شده توسط *گیوستینا* (Giustina 1989) استفاده گردید. برای تشخیص گونه، اندام تناسلی جنس نر تهیه شد و با مشخصات اندام تناسلی گونه‌های این جنس ارائه شده توسط *ریبات* (Ribaut 1952) و *کرستینگ و همکاران* (Kersting, *et al.* 1992) مقایسه شده و سپس شناسایی گردید. تشخیص زنجرک *O. albicinctus* براساس مشخصات مورفولوژیکی ارائه شده توسط

ویلسون و ترنر (Wilson and Turner 2010) و مقایسه اندام تناسلی جنس نر با نمونه‌های تیپ صورت گرفت. زنجرک‌های جمع‌آوری شده بدون در نظر گرفتن سن آنها، به چهار گروه تقسیم گردیده و در زیر سرپوش به مدت چند هفته روی چهار گلدان (برای هر نوع زنجرک) حاوی گیاهچه‌های شلغم سالم (عاری از ویروس) پرورش داده شدند. دلیل تقسیم بندی زنجرک‌های جمع‌آوری شده، افزایش تعداد تکرارها و کاهش احتمال آلودگی هر گروه به ویروس‌ها و فیتوپلاسماهای ناخواسته بود. در طی این مدت، گیاهان مورد تغذیه زنجرک‌ها، از نظر ایجاد علائم بیماری‌های ویروسی و فیتوپلاسمائی کنترل شدند. علاوه بر این، عدم آلودگی گیاهان مورد تغذیه با استفاده از آزمون PCR و آغازگرهای اختصاصی TCTV تائید گردید. پس از اطمینان از سالم بودن زنجرک‌ها، از هر گلدان ۱۰-۸ عدد زنجرک شامل پوره‌های سنین مختلف و یا زنجرک-های بالغ، به گلدان جدید حاوی چند گیاه شلغم آلوده به TCTV انتقال داده شدند. قبلاً گیاهان شلغم توسط سازه عفونت‌زای TCTV با مشخصات TCTV-[IR:Zaf:B11:06](Accession number GU456685) آلوده شده و صحت آلودگی آنها با تشخیص وجود ویروس در گیاهان مایه‌زنی شده توسط آزمون PCR و ایجاد علائم مشخص TCTV به اثبات رسیده بود (Razavinejad *et al.* 2012). آغازگرهای مورد استفاده در آزمون PCR در جدول ۱ آورده شده است. زنجرک‌های هر گلدان بعد از سه روز تغذیه، به گیاهچه‌های سالم شلغم انتقال داده شدند. بعد از سه هفته، آلودگی و یا عدم آلودگی گیاهان شلغم، ابتدا با بررسی بروز علائم و سپس وجود ویروس در گیاهان مایه‌زنی شده با زنجرک‌ها از طریق آزمون PCR ارزیابی گردید.

جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی

برای شناسایی میزبان‌های احتمالی TCTV، در تیر ماه ۱۳۸۹ اقدام به جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی در داخل یا اطراف مزارع آلوده واقع در منطقه همایجان، واقع در ۵۰ کیلومتری غرب شیراز گردید. این منطقه یکی از معدود نقاطی است که این ویروس به‌شدت شیوع دارد. نمونه‌ها شامل گیاهان زراعی و علف‌های هرز بودند. در میان نمونه‌های برداشت شده، برخی از نمونه‌های زراعی دارای علائم ولی همه نمونه‌های مربوط به علف‌های هرز غالبا فاقد علائم مشخصی بودند (جدول ۲).

استخراج دی اِن اِ و شناسائی نمونه‌ها

استخراج دی اِن اِی کل از نمونه‌ها به روش CTAB و براساس روش *ژانگ و همکاران* (Zhang *et al.* 1998) انجام شد. برای تشخیص ویروس، از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) و آغازگرهای مستقیم TCTV-840-F و TCTV-97-F و آغازگر معکوس TCTV-1594-R (جدول ۱) استفاده شد. آغازگرهای TCTV-840-F و TCTV-1594-R، قادر به تکثیر یک قطعه ۷۷۵ جفت بازی از ژنوم ویروس حاوی قسمتی از چارچوب‌های خوانش V1، C2 و C3 می باشند و آغازگرهای TCTV-97-F و TCTV-1594-R نیز یک قطعه ۱۵۱۷ جفت بازی از ژنوم ویروس حاوی چارچوب‌های خوانش V1 و V2 و قسمت‌هایی از C2 و C3 را تکثیر می‌کنند.

تکثیر طول کامل ژنوم جدایه تربچه ویروس پیچیدگی برگ شلغم (TCTV)

برای تکثیر طول کامل ژنوم ویروس در نمونه تربچه که قبلاً آلودگی آن به TCTV باآزمون PCR اثبات شده بود از

جدول ۱. نام و ترادف آغازگرهای مورد استفاده در آزمون پی سی آر به منظور شناسایی میزبان‌های طبیعی ویروس پیچیدگی برگ شلغم

Table 1. Name and sequence of primers used in PCR test for identification of natural hosts of turnip curly top virus.

Primer name	Primer sequence
TCTV-840-F	5´-GGCCAATGATGCTTTCTGGGA-3´
TCTV-97-F	5´-CTTGGTCGTGTGGTCCCAAAGG-3´
TCTV-1594-R	5´-AATATCATGGGACCACCAGGA-3´

جدول ۲. مشخصات نمونه‌های جمع‌آوری شده گیاهی از مزارع شلغم همایجان، واقع در ۵۰ کیلومتری غرب شیراز به منظور شناسایی میزبان‌های طبیعی ویروس پیچیدگی برگ شلغم

Table 2. Characteristics of collected plant samples in Homayejan region (50 Km northwest of Shiraz) for identification of natural hosts of turnip curly top virus.

Common name نام عمومی	Scientific name نام علمی	Family تیره	Number of positive samples تعداد نمونه	Symptoms علائم
Sea beet چغندر لبویی	*Beta vulgaris* L. subsp. *maritima*	*Chenopodiaceae*	0/3	Leaf curling, swelling of veins
Radish تربچه	*Raphanus sativus* L.	*Brassicaceae*	9/9	Leaf curling, vein clearing, leaf chlorosis
Common Sunflower آفتاب‌گردان	*Helianthus annuus* L.	*Asteraceae*	0/1	Severe cupping of leaves, interveinal necrosis
Kohlrabi کلم قمری	*Brassica oleracea* var. *gongylodes*	*Brassicaceae*	0/3	Symptomless
Bean لوبیا	*Phaseolus vulgaris* L.	*Legominosae*	0/5	Symptomless
Flower of an-hour گل یک ساعتی	*Hibiscus trionum* L.	*Malvaceae*	1/2	Symptomless
Bugloss گاوزبان کوچک	*Anchusa ovata* Lehm.	*Boraginaceae*	1/2	Symptomless
Herb sophia (flix weed) خاکشیر	*Descurainia sophia* (L.) Web ex Prantl	*Brassicaceae*	1/2	Symptomless
Black nightshade تاج ریزی	*Solanum nigrum* L.	*Solanaceae*	1/2	Symptomless

آنزیم فی دی اِن اِ پلی مراز و کیت Templiphi (Amersham Biosciences, USA) و بر اساس روش شپرد و همکاران (Shepherd *et al.* 2008) استفاده گردید. با کمک این کیت، ژنوم ویروس به روش دایره غلتان (Rolling Circle Amplification, RCA) و به صورت یک پلی‌مر خطی شامل چندین طول کامل ژنوم ویروس تکثیر گردید. در مرحله بعد، محصول آر سی اِ (RCA) توسط آنزیم برشی *Kpn*I که فقط دارای یک جایگاه برش در ژنوم TCTV است بریده شده و درون پلاسمید pTZ قرار داده شد. برای این منظور قبلاً نیز پلاسمید pTZ با آنزیم برشی *Kpn*I تیمار شده بود. علاوه بر این، به منظور جلوگیری از اتصال مجدد دو انتهای پلاسمید، می بایست گروه‌های فسفر از دو انتهای ´۵ بازوهای پلاسمید حذف گردد. برای این منظور از آنزیم SAP (Shrimp Alkaline Phosphatase, Fermentas, Lithuania) استفاده شد. یک شب بعد از تیمار نمونه با آنزیم برشی، ۱/۵ واحد از آنزیم SAP به لوله واکنش اضافه شد و طبق دستورالعمل شرکت سازنده به مدت یک ساعت در دمای ۳۷°C نگه‌داری شد. بعد از آن برای غیرفعال نمودن آنزیم، لوله حاوی واکنش به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۶۵°C تیمار گردید. سپس خالص‌سازی پلاسمید با استفاده از کیت High Pure PCR Product Purification Kit (Roche, Germany) انجام شد. بعد از قرار دادن طول کامل ژنوم TCTV داخل پلاسمید pTZ، پلاسمید نوترکیب حاصل به سلول‌های باکتری *Escherichia coli* نژاد JM107 منتقل گردید و پلاسمیدهای استخراج شده برای تعیین ترادف به شرکت ماکروژن کره جنوبی ارسال شدند. برای تعیین درصد مشابهت ترادف جدایه تربچه TCTV با ترادف جدایه‌های شلغم TCTV موجود در بانک ژن (GenBank)، از نرم‌افزار DNAMAN استفاده شد.

نتایج و بحث

انتقال TCTV

در مطالعه مربوط به قابلیت انتقال TCTV توسط زنجرک‌ها، بعد از ۲۰-۱۰ روز اکثر بوته‌های شلغم مورد تغذیه توسط هر چهار گروه زنجرک *C. haematoceps* علائم مشخص TCTV شامل پیچیدگی برگ‌ها به سمت بالا در امتداد محور اصلی برگ، راست ایستادن برگ‌ها و تورم شدید رگبرگ‌ها در پشت برگ‌ها را نشان دادند (شکل ۱). آلودگی بوته‌های فوق به TCTV با استفاده از آغازگرهای TCTV-840-F/TCTV-1594-R و TCTV-97-F/TCTV-1594-R در آزمون PCR و تکثیر قطعات مورد نظر تائید گردید. در حالی‌که بوته‌های شلغم مورد تغذیه زنجرک *O. albicinctus* بعد از دو ماه هیچ‌گونه علائمی نشان ندادند. علاوه بر این، در آزمون PCR نیز با استفاده از آغازگرهای فوق و دی اِن اِی استخراج شده از این گیاهان، هیچ قطعه‌ای تکثیر نشد. تاکنون زنجرک *C. haematoceps* به عنوان ناقل چندین فیتوپلاسما، اسپیروپلاسما و ویروس از جمله BCTIV از ایران گزارش شده است (Salehi and Izadpanah, 1992; Hosseini Abhari *et al.* 2005; Salehi and Izadpanah 2002). در جمینی ویروس‌ها پروتئین پوششی، علاوه بر ایجاد پوشش برای ژنوم، در حرکت ویروس در گیاه و انتقال آن توسط ناقل نقش دارد (Brown *et al.* 2012). میزان شباهت ترادف آمینو اسیدی این پروتئین بین TCTV و اعضای جنس کرتوویروس ۳۹/۸-۳۶/۸ درصد و بیشترین شباهت را هم با BCTIV دارا می‌باشد. در صورتی‌که میزان شباهت این پروتئین در تمامی اعضای جنس کرتوویروس با یکدیگر ۷۹/۳-۷۵/۹ درصد است. از این مقایسه می‌توان نتیجه‌گیری کرد که زنجرک *C. haematoceps* قابلیت انتقال دو جمینی ویروس بسیار

شکل ۱. علائم ویروس پیچیدگی برگ شلغم روی بوته شلغم شامل پیچیدگی برگ‌ها به سمت داخل، تورم رگبرگ و راست ایستادن برگ‌ها سه هفته بعد از شروع تغذیه زنجرک *Circulifer haematoceps* در شرایط گلخانه

Fig. 1. Symptoms of turnip curly top virus including inward rolling of the leaves, swelling of veins and upright leaves three weeks after inoculation of the virus by viruliferous leafhopper, *Circulifer haematoceps* under greenhouse conditions.

متفاوت با توجه به میزان شباهت پروتئین پوششی را داراست. در میان چارچوب‌های خوانش موجود روی ژنوم TCTV، چارچوب خوانش C4 دارای بیشترین شباهت آمینو اسیدی با چارچوب‌های خوانش مشابه در کرتوویروس‌ها (۷۰/۶-۴۵/۹ درصد) می‌باشد (Briddon *et al.* 2010).

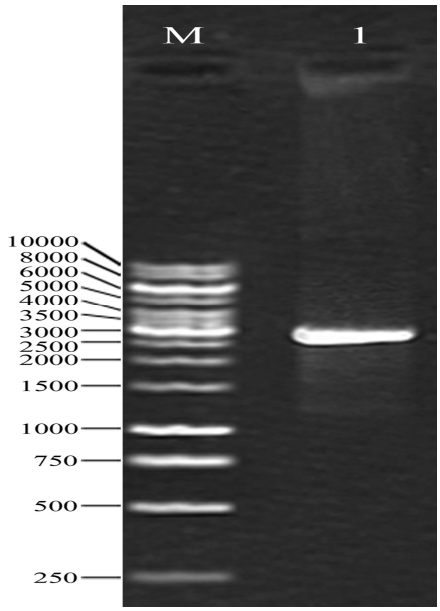
میزبان‌های طبیعی TCTV

از میان نمونه‌های زراعی برداشت شده (جدول ۲) علاوه بر شلغم، آلودگی طبیعی تربچه (*Raphanus sativus* L.) به TCTV اثبات گردید. علائم آلودگی طبیعی تربچه شامل پیچیدگی و فنجانی شدن برگ‌ها به سمت بالا، سبزردی و خشکیدگی انتهای برگ‌ها و روشن شدن رگبرگ‌ها در تعداد زیادی از بوته‌هایی که از اطراف مزارع آلوده شلغم واقع در منطقه همایجان استان فارس جمع‌آوری شده بودند دیده شد (شکل ۲).

انجام واکنش RCA روی دی اِن اِی استخراج شده از نمونه‌های تربچه و سپس برش نمونه تکثیر شده با آنزیم برشی *Kpn*I، منجر به تشکیل یک باند دی اِن اِ به اندازه تقریبی ۳۰۰۰ جفت باز در ژل آگاروز شد (شکل ۳). بعد از همسانه سازی و تعیین ترادف ژنوم کامل جدایه تربچه TCTV، طول آن ۲۹۷۴ نوکلئوتید تعیین گردید (Accession number JQ742019). سپس ترادف به‌دست آمده با ترادف‌های مشابه مربوط به جدایه‌های شلغم TCTV موجود در بانک جهانی ژن مقایسه گردید. نتایج حاصل از این مقایسه نشان داد که جدایه تربچه TCTV از نظر ترادف نوکلئوتیدی به میزان ۹۹-۹۳ درصد با جدایه‌های شلغم TCTV که همگی آنها نیز قبلاً از دو منطقه همایجان و ظفرآباد واقع در استان فارس گزارش شده‌اند، مشابهت دارد. علی‌رغم وجود علائم پیچیدگی شدید برگ و تورم رگبرگ‌های نمونه‌های چغندر لبوئی و هم‌چنین فنجانی شدن شدید برگ‌های آفتاب گردان، آلودگی این گیاهان به TCTV در آزمون PCR تأیید نشد. شایان ذکر است که نمونه‌های چغندر لبوئی و آفتاب گردان

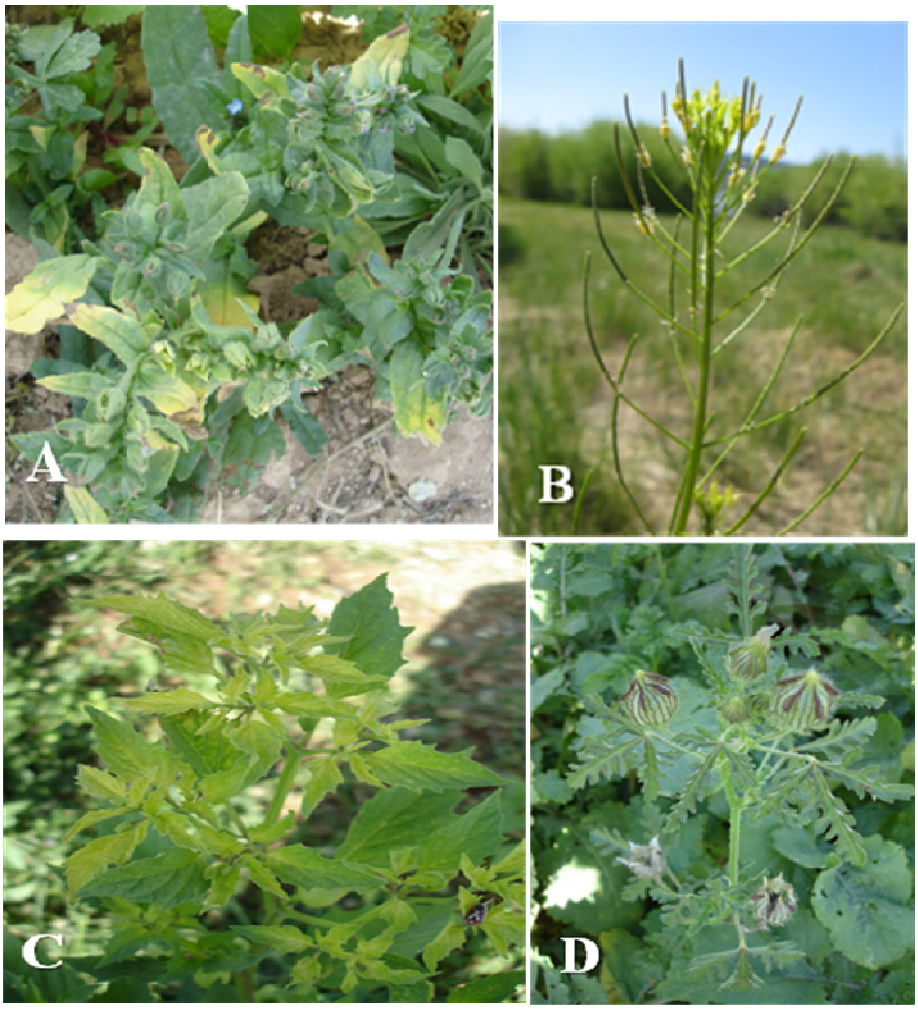
شکل ۲. علائم ویروس پیچیدگی برگ شلغم شامل پیچیدگی، لوله شدن و نکروز حاشیه برگ‌ها به سمت بالا و لکه‌های سبز در روی یک بوته تربچه جمع‌آوری شده از حاشیه یک مزرعه آلوده شلغم در منطقه همایجان، ۵۰ کیلومتری شمال غرب شیراز

Fig. 2. Symptoms of turnip curly top virus including inward rolling and necrosis of the leaf margins and chlorosis on a radish plant collected from a severely infected turnip field in Homayejan region, 50 km northwest of Shiraz.



شکل ۳. باند حاصل از تکثیر طول کامل ژنوم ویروس پیچیدگی برگ شلغم (جدایه تربچه) توسط آنزیم فی دی اِن اِ پلی مراز به روش دایره غلتان در ژل آگاروز ۱٪، M نشانگر مولکولی

Fig. 3. Band pattern of rolling circle amplification of full-length genome of turnip curly top virus (radish isolate) by phi DNA polymerase in 1% agarose gel; M, molecular marker.

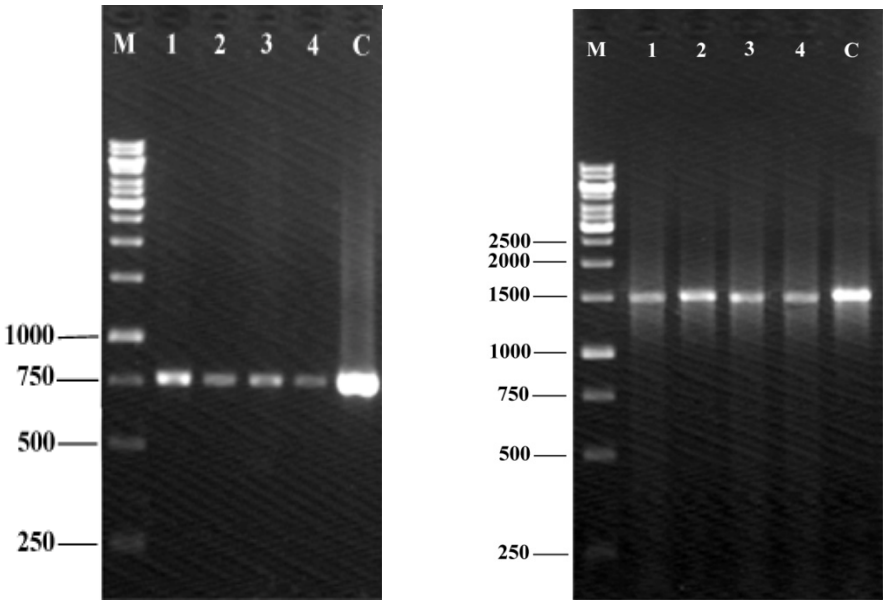


شکل ۴. علف هرزهای آلوده به ویروس پیچیدگی برگ شلغم جمع‌آوری شده از مزارع شلغم همایجان (استان فارس). گاوزبان کوچک (A)، خاکشیر (B)، تاجریزی سیاه (C)، گل یک ساعتی (D)

Fig. 4. Turnip curly top virus-infected weed species, collected from turnip growing farms of Homayejan (Fars province). Bugloss (A), Herb sophia (B), Black nightshade (C), Flower of an-hour (D).

از داخل مزارع به‌شدت آلوده شلغم جمع‌آوری شده بودند. در مطالعات بعدی آلودگی نمونه‌های چغندر لبوئی به BCTIV اثبات گردید. این موضوع نشان می‌دهد که احتمالا گیاه چغندر در طبیعت میزبان مناسبی برای TCTV نیست. فرضیه فوق با ساخت سازه عفونت‌زا و بررسی عکس‌العمل گیاه چغندر به آلودگی در برابر TCTV به اثبات رسید (Razavinejad *et al.* 2013).

از میان علف‌های هرز جمع‌آوری شده از مزارع آلوده شلغم، آلودگی نمونه‌های خاکشیر (*Descurainia sophia* (L.) Web ex Prantl.)، گاوزبان کوچک (*Anchusa ovata* Lehm.)، تاجریزی سیاه (*Solanum nigrum* L.) و گل یک ساعتی (بامیه سه شاخ) (*Hibiscus trionum* L.) (شکل ۴) به TCTV با استفاده از آزمون PCR تائید گردید. دی اِن اِی استخراج شده از نمونه‌های فوق در این آزمون هم با جفت آغازگر TCTV-840-F/TCTV-1594-R و هم با جفت آغازگر



شکل ۵. الگوی الکتروفورزی محصولات پی سی آر تکثیر شده با آغازگرهای TCTV-97-F/TCTV-1594-R (قطعه ۱۵۱۷ جفت‌بازی، تصویر سمت راست) و آغازگرهای TCTV-840-F/TCTV-1594-R (قطعه ۷۷۵ جفت‌بازی، تصویر سمت چپ) در ژل آگاروز ۱٪ مربوط به چهار علف هرز آلوده به ویروس پیچیدگی برگ شلغم. خاکشیر (1)، گاوزبان کوچک (2)، تاجریزی سیاه (3)، گل یک ساعتی (4)، شاهد مثبت (C). نشانگر مولکولی (M)

Fig. 5. Electrophoretic patterns of amplified PCR products of TCTV on 1% agarose gel using TCTV-97-F/TCTV-1594-R (1517 bp band, right panel) and TCTV-840-F/TCTV-1594-R (775 bp band, left panel) primer pairs and the extracted DNA from four turnip curly top virus-infected weed species; herb sophia (1), bugloss (2),black nightshade (3), flower of an-hour (4), positive control (C) and molecular marker (M).

TCTV-97-F/TCTV-1594-R واکنش مثبت نشان دادند و به ترتیب باندهای ۷۷۵ و ۱۵۱۷ جفت بازی تکثیر گردید (شکل ۵). به‌استثنای گاوزبان کوچک و تاجریزی سیاه که به‌صورت خفیف دارای علائم زردی بودند، سایر علف‌های هرز فاقد علائم مشخصی بودند. این نتایج اهمیت نقش علف‌های هرز فوق را در پایداری و گسترش TCTV در طبیعت نشان می‌دهد.

منابع

جهت ملاحظه به صفحات (28-27) متن انگلیسی مراجعه شود.