ژنتیک نوین
دوره نهم، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۳
صفحه ۲۴۴-۲۳۹

ردیابی سرولوژیکی و مولکولی دو ویروس مولد موزائیک در مزارع ذرت استان گلستان

Serological and molecular detection of two mosaic borne viruses in maize fields of Golestan province

عاطفه ذاکری[۱]، فروه‌سادات مصطفوی‌نیشابوری[۱]، سعید نصراله‌نژاد*[۱]

۱- به ترتیب دانش‌آموختگان کارشناسی‌ارشد و دانشیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

Zakeri A, Mostafavi Neishaburi FS, Nasrollahnejad S

1. Graduate Students, Associate Professor, Gorgan University of Agriculture and Natural Resources

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: snasrollahnejad@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۹۱/۱۱/۱۴- تاریخ پذیرش: ۹۲/۹/۲۴)

چکیده

در سال‌های اخیر علائم بیماری‌های ویروسی مانند موزائیک منجر به کاهش رشد و کاهش محصول در سطح زیادی از مزارع ذرت شده است. از پوتی‌ویروس‌های غلات در ایران دو ویروس موزائیک کوتولگی ذرت (*Maize dwarf mosaic virus*, MDMV) در شمال ایران و موزائیک ایرانی قیاق (*Iranian Johnson grass mosaic virus*, IJMV) در اکثر مناطق کشور از مهمترین ویروس‌های ذرت محسوب می‌شوند. به منظور ردیابی این دو ویروس از مزارع ذرت استان گلستان، تعداد ۳۵۰ نمونه از مناطق مختلف تهیه شد که این نمونه‌ها با آزمون الایزای غیرمستقیم توسط آنتی‌سرم‌های اختصاصی دو ویروس مذکور مورد بررسی قرار گرفت و استخراج آران‌آی ویروس از نمونه-های آلوده صورت گرفت. cDNA حاصل با جفت آغازگرهای اختصاصی در آزمون واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز تکثیر شد. نتایج حاصل از آزمون الایزا نشان داد که در برخی مناطق آلودگی توام مزارع ذرت به IJMV و MDMV وجود دارد به‌طوری‌که برخی نمونه‌های ذرت با آنتی سرم‌های هر دو ویروس واکنش مثبت نشان دادند. همچنین آلودگی به MDMV، نیز در نمونه‌های ذرت و قیاق این مناطق مشاهده شد. ضمن اینکه تمام مناطق مورد بررسی آلوده به IJMV تشخیص داده شدند. واکنش‌های مثبت در آزمون PCR با آغازگرهای استفاده شده نیز نتایج بدست آمده از آزمون الایزا را تایید کرد و وجود دو باند تکثیر شده مربوط به هر ویروس در الکتروفورز نیز بیانگر آلودگی توام برخی نمونه‌ها به دو ویروس بود، همچنین نتایج حاصل از الکتروفورز محصول PCR نمونه‌های مایه‌زنی شده به ارزن مرواریدی نیز فقط قطعه مربوط به MDMV را نشان داد. بر اساس نتایج این بررسی اکثر گیاهان ذرت و قیاق با علائم موزائیک، زردی و کوتولگی به یکی یا هر دو ویروس IJMV و MDMV آلوده بودند.

واژه‌های کلیدی

ویروس
ویروس موزائیک کوتولگی ذرت
ویروس موزائیک ایرانی قیاق
الایزا
واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.2.13.4]

پوتی‌ویریده بزرگترین و از لحاظ اقتصادی مهمترین تیره ویروس-های گیاهی می‌باشد. این تیره داری ۲۰۰ گونه است که نزدیک به ۲۵ درصد کل ویروس‌های گیاهی را شامل می‌شود و تقریبا روی اکثر گیاهان بیماری ایجاد می‌کنند و دارای هفت جنس می‌باشد که با توجه به اهمیت اقتصادی جنس پوتی‌ویروس، مطالعات وسیع-تری در سطح جهان روی آن انجام شده است (Hull 2002). چهار ویروس; موزائیک کوتولگی ذرت (*Maize dwarf mosaic virus*, MDMV)، موزائیک نیشکر (*Sugarcane mosaic virus*, SCMV)، موزائیک سورگوم (*Sorghum mosaic virus*, SrMV) و موزائیک قیاق (*Johnson grass mosaic virus*, JGMV) را به-عنوان پوتی‌ویروس‌های غلات معرفی کردند که قبلا به‌عنوان زیر گروه SCMV در جنس پوتی‌ویروس قرار گرفته بودند (Shukla et al. 1989). در حال حاضر ویروس موزائیک زآ (*Zea mosaic virus*, ZeMV) از اسرائیل، ویروس موزائیک پنی‌ستوم (*Pennisetum mosaic virus*, PeMV) از شمال چین، ویروس موزائیک ایرانی قیاق (*Iranian Johnson grass mosaic virus*, IJMV)، ویروس موزائیک جنوبی مرغ (*Southern Bermuda grass mosaic virus*, BgSMV) و ویروس علف دانه قناری نی-مانند (*Reed canary grass mosaic virus*, RCGMV) از ایران جزو این خانواده می‌باشند (Mathews 1991). ویروس موزائیک کوتولگی ذرت (MDMV) یک بیماری ویروسی مهم ذرت با پراکنش وسیع به‌شمار می‌رود، که در اکثر کشورهایی که ذرت و سورگوم کشت می‌شود گزارش شده است (Gordon et al. 1981). این ویروس اولین بار در سال ۱۹۶۲ از ایالت اوهایو آمریکا گزارش شد (Ford and Tosic 1972). میزبان‌های شناخته شده این ویروس از تیره گرامینه می‌باشند. ذرت، سورگوم زراعی، قیاق و *Panicum miliaceum* فراوانترین میزبان‌ها در میان گیاهان یک ساله هستند. علائم بیماری در گیاهان میزبان بصورت موزائیک و نکروتیک در برگ‌ها و همچنین کوتولگی بوته می‌باشد (Ford and Tosic 1989). ویروس عامل بیماری به طور طبیعی در قیاق وجود دارد و ایجاد بیماری در ارتباط همیشگی با حضور قیاق است (Toler 1985). بیش از ۲۰۰ گونه از تیره گندمیان نسبت به MDMV حساس هستند، ولی قیاق مهمترین منبع طبیعی ویروس محسوب می‌شود.MDMV بطور مکانیکی در آزمایشگاه و بطور طبیعی با بیش از ۵۰ گونه شته بصورت ناپایا منتقل می-شود. همچنین این ویروس با مایه‌زنی مکانیکی و بذر نیز قادر به انتقال است، اما از طریق تماس دو گیاه و دانه‌های گرده منتقل نمی‌شود (Tosic et al 1990). انتقال با بذر به احتمال زیاد یکی از دلایل گسترش سریع و جهانی MDMV می‌باشد. در ایران، اولین‌بار در سال ۱۳۷۹ از مزارع ذرت دشت ناز ساری (مازندران) و علف‌های هرز قیاق ویروسی با علائم موزائیک مشاهده شد که آن را پوتی‌ویروس شبیه MDMV نامیدند. این پوتی‌ویروس براساس آزمون‌های سرولوژیکی با IJMV و SCMV به ترتیب رابطه دور و ضعیف داشت، ولی با SrMV و JGMV هیچ رابطه-ای دیده نشد، در بررسی‌های مولکولی قسمتی از ژن CP عوامل مولد موزائیک در ذرت ساری و اصفهان MDMV تشخیص داده شد و معلوم شد که این ویروس بصورت گسترده در استان‌های فارس و مازندران وجود دارد. ویروس موزائیک ایرانی قیاق (IJMV) از ذرت، سورگوم و قیاق برخی مناطق کشور با علائم موزائیکی گزارش شد (Masumi et al. 2011). این ویروس بدلیل اینکه با آنتی سرم SCMV-D از آمریکا واکنش خفیفی نشان داد به عنوان یک استرین ویروس موزائیک نیشکر تحت عنوان (*Sugarcane mosaic virus-maize shiraz* ,SCMV-MS) نامیده شد و سپس دیگر جدایه‌ها از برخی مناطق کشور نیز SCMV-MS تشخیص داده شدند. این ویروس با شته‌های *Rhopalosiphum padi, R. maidis, Schizaphis graminum* و *Diuraphis noxia* قابل انتقال می‌باشد و همچنین به طور مکانیکی به قیاق، ذرت، سورگوم و ارزن انتقال می‌یابد (Tosic et al. 1990).

روابط SCMV-MS آمریکا در آزمون نشت دو طرفه در ژل آگار (AGD) با تشکیل مهمیزک از (BgSMV) BJV و SCMV-D متمایز شد ولی با MDMV، SrMV و JGMV هیچ واکنشی نشان نداد (Masumi et al. 2005). SCMV-MS براساس آزمون‌های سرولوژیک و تجزیه مولکولی براساس ترادف نوکلئوتیدی ناحیه ′۵ ژن *CP* به عنوان یک ویروس جدید در گروه پوتی‌ویروس به نام ویروس موزائیک ایرانی قیاق (*Iranian Johnson grass mosaic virus*, IJMV) معرفی شد و با مقایسه ترادف نوکلئوتیدی و آمینواسیدی ناحیه ′۵ ژن CP ویروس IJMV با سایر پوتی-

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.2.13.4]

ویروس‌های غلات، مشخص شد که این ویروس تنها با ZeMV بیشترین شباهت (۸۲ درصد) را دارد. منشا این ویروس قیاق می‌باشد و به دلیل گسترش وسیع آن در ایران به‌نظر می‌رسد که بومی ایران باشد. دو ویروس ذکر شده از پوتی‌ویروس‌های مهم ذرت هستند. IJMV در اکثر مناطق کشور گسترده است و MDMV نیز تنها از شمال ایران (مازندران) و اصفهان گزارش شده است که از ویروس‌های مهم در شمال ایران می‌باشد (Masumi et al. 2011).

این بررسی به منظور ردیابی دو ویروس مهم مولد موزائیک در مناطق کشت ذرت گرگان به دو روش سرولوژیکی و مولکولی و تعیین مناطق آلوده و میزان آلودگی به آنها صورت گرفت. نمونه برداری از گیاهان ذرت و قیاق با علائم موزائیک، زردی و کوتولگی به تعداد ۳۵۰ نمونه از مزارع ذرت شهرستان گرگان در ماههای شهریور، مهر و آبان صورت گرفت. نمونه‌ها برای تشخیص نوع ویروس با آزمون الایزای غیرمستقیم و با آنتی سرم‌های اختصاصیIJMV و MDMV ارزیابی شدند. مناطق نمونه‌برداری، میزبان و آلودگی مناطق به هرکدام از ویروس‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است.

جهت اطمینان بیشتر برای تفکیک دو ویروس، گیاهان آلوده‌ای که با هر دو آنتی‌بادی ویروس موزائیک کوتولگی ذرت و ویروس موزائیک ایرانی قیاق واکنش مثبت نشان داده بودند، در ۵ حجم بافر فسفات پتاسیم ۰/۰۵ مولار، pH =۷، در هاون سترون عصاره‌گیری شد. عصاره به دست آمده روی برگ گیاه ارزن مرواریدی که قبلاً با پودر کاربوراندوم گردپاشی شده بودند، به صورت مکانیکی مایه‌زنی شد (Christie et al. 1986).

آر ان ای ویروس با توجه به وجود دنباله‌ی پلی A در انتهای ′۳ آن (Allison et al. 1985). با استفاده از کیت mRNA Capture (Roche) استخراج شد. واکنش PCR با آغازگرهای اختصاصی MDMV و IJMV انجام گرفت که برای انجام این واکنش از آغازگرهای جدول شماره ۲ استفاده شد. ژل الکتروفورز پس از آماده‌سازی برای بررسی نتایج آزمون PCR مورد استفاده قرار گرفت و با کمک مارکرهای مخصوص اندازه قطعه تکثیر شده تخمین زده شد.

طی سه نوبت نمونه‌برداری از مزارع ذرت استان گلستان با آزمون الایزای غیرمستقیم مناطق آلوده به ویروس‌های موزائیک کوتولگی ذرت و موزائیک ایرانی قیاق و آلودگی مشترک مشخص شدند (جدول۱).

نتایج این تحقیق نشان داد که در مناطق حکیم‌آباد و تقی‌آباد درصد آلودگی ذرت و قیاق به IJMV خیلی بیشتر از میزان آلودگی تنها به MDMV بوده‌است. در این بررسی تمام مناطق (تقی آباد، حکیم آباد، توسکستان، اصفهان کلاته، جاده یساقی، روستای آلوفن، روستای کلو، پیچک محله) آلوده به IJMV تشخیص داده شدند. همچنین نتایج تحقیق دو ساله نشان داد که برخی نمونه‌های ذرت نیز با آنتی‌سرم‌های هر دو ویروس واکنش مثبت نشان دادند و آلودگی مشترک به هر دو ویروس را داشتند. این نشان می‌دهد که هر دو ویروس در گیاه میزبان می‌توانند با هم تکثیر شوند. اگرچه در منطقه عباس‌آباد با وجود بیشتر بودن تعداد نمونه‌های ذرت آلوده به IJMV ولی تعداد کمی از نمونه‌های ذرت و قیاق فقط به MDMV آلوده بودند، اما در این منطقه آلودگی توام مشاهده نشد (جدول۱).

مناطق توسکستان، اصفهان کلاته و پیچک محله آلودگی ۱۰۰ درصد به IJMV را نشان دادند. اما مناطق آلوفن و جاده یساقی هر چند که دارای علائم موزائیک ویروسی در برگ‌ها بودند اما با هیچ‌کدام از آنتی‌سرم‌های MDMV و IJMV واکنش نشان ندادند. آلودگی توام گیاه ذرت در مزرعه به دو ویروس MDMV و IJMV نشان می‌دهد که هر دو ویروس با هم در گیاه می‌توانند تکثیر یابند، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که این دو ویروس مذکور از دو گونه متفاوت می‌باشند و یا به‌عبارت دیگر دو استرین یک ویروس نمی‌باشند، وجود دو قطعه تکثیر شده در الکتروفورز حاصل از واکنش PCR از یک cDNA با آغازگرهای اختصاصی دو ویروس، آلودگی توام MDMV و IJMV را در برخی نمونه‌ها تایید کرد، همچنین از بافت‌های آلوده به هر دو ویروس، مایه‌زنی شده به ارزن مرواریدی به دلیل اینکه IJMV قادر به آلوده سازی آن نمی‌باشد در واکنش PCR تنها MDMV تکثیر شد (شکل۱) ، بنابراین نمونه‌های ذرت این مناطق نیز به ویروس IJMV آلودگی دارند.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.2.13.4]

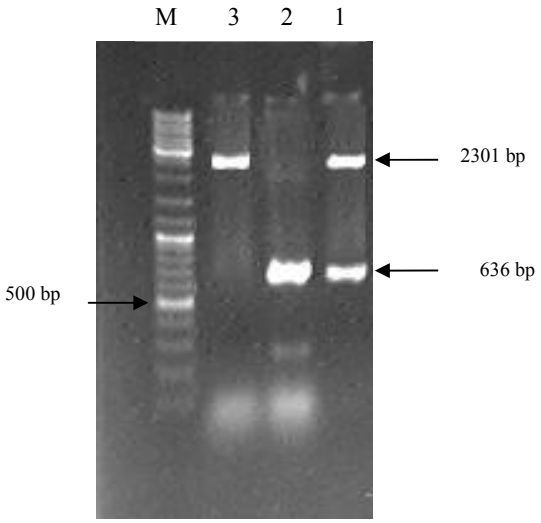
جدول۱- مناطق نمونه‌برداری، گیاه میزبان و نتایج درصد آلودگی به ویروس‌های IJMV، MDMV و آلودگی توام به هر دو ویروس

منطقه	میزبان	تعداد نمونه	درصد آلودگی تنها به IJMV	درصد آلودگی تنها به MDMV	درصد آلودگی توام به هر دو ویروس
تقی‌آباد	ذرت	۸۰	۹۳	–	۵
	قیاق		–	۲/۵	–
حکیم‌آباد	ذرت	۳۰	۷۰	–	۱۴
	قیاق		–	۱۰	–
عباس‌آباد	ذرت	۴۰	۸۰		–
	ذرت و قیاق		–	۵	–
توسکستان	ذرت و قیاق	۲۰	۱۰۰	–	–
اصفهان‌کلاته	ذرت و قیاق	۲۰	۱۰۰	–	–
پیچک محله	ذرت و قیاق	۴۰	۱۰۰	–	–
منطقه آلوفن	ذرت و قیاق	۳۰	–	–	–
منطقه کلو	ذرت و قیاق	۳۰	۴۷	–	–
جاده یساقی	ذرت و قیاق	۲۰	–	–	–
حسن‌آباد	ذرت و قیاق	۴۰	۹۰	–	–

جدول ۲- ترادف آغازگرهای مورد استفاده در واکنش PCR

Name	Orientation	SIZE	Sequence*	Reference
MDR1	Reverse		5′-RTGCATRATTTGTCTGAAAGTTGG-3′	Masumi et al. 2011
MDF3	Forward	636 bp	5′-GATGAGTTRAAYGTYTATGCACGAC-3′	
IJMV	Forward	2301 bp	5'AATCAGCTCGACCCAAATGG -3′	Masumi et al. 2011
	Reverse		5'-ACCCAACAGCGCCTCTAAGC-3′	
NIT	Reverse		5′-GACCACGCGTATCGATGTCGAC(T)17- 3′	Ha et al. 2007

*در این آغازگرها کدهای دژنره عبارتند از: R= (A/G) ، Y= (C/T)، K=(G/T) و H=(A/C/T)



شکل۱- نتایج نقوش الکتروفورزی محصولات RT-PCR با آغازگرهای اختصاصی MDMV و IJMV. چاهک۱) نمونه آلوده به MDMV و IJMV؛ چاهک۲) نمونه آلوده به MDVM؛ چاهک۳) نمونه آلوده به IJMV؛ M) نشانگر GenRuler^{TM}100 bp DNA Ladder از شرکت Fermentas).

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.2.13.4]

نتایج این بررسی نشان می‌دهد که IJMV گسترش وسیع‌تری نسبت به MDMV در استان گلستان دارد و به‌عنوان ویروس شایع در این استان معرفی می‌گردد. طبق نظریه Harrison (1981) ویروس‌های گیاهی به دو گروه سازگار با گیاهان زراعی (cultivated plant-adapted viruses, CULPAD) و سازگار با علف‌های هرز (wild plant-adapted viruses, WILPAD viruses) تقسیم می‌شوند (Hull 2002) ویروس‌های گیاهی سازگار با گیاهان زراعی (CULPAD) دارای دامنه میزبانی محدودتری بوده و شامل جنس‌های Potexvirus، Tobamovirus و Illarvirus هستند.گروه WILPAD نیز سازگار با گیاهان علف‌هرز هستند ولی در صورت وجود گیاه زراعی، آن را نیز آلوده می‌کنند مثل جنس‌های Cucumoviruse، Potyvirus، Tymovirus و Rhabdovirus های گیاهی. قیاق میزبان اصلی پوتی‌ویروس‌های IJMV (Shukla et al. 1989; Hosseini et al. 2010) است ولی هر دو ویروس از گیاه زراعی ذرت نیز گزارش شده‌اند و با آنها سازگاری بیشتری یافته‌اند، بر این اساس جز گیاهان WILPAD viruses محسوب می‌شوند (Vanregenmortel 2000) این ویروس‌ها با گسترش کاشت گیاهان زراعی میزبان، با آن سازگار شده و گسترش وسیع پیدا خواهند کرد. این دو ویروس قادر به آلوده‌سازی گیاهان زراعی می‌باشند و با توجه به دوام و ثبات اکولوژیکی گیاهان غیرزراعی میزبان و نیز توسعه کشت غلات و اهمیت این محصولات برای زندگی بشر، وجود پوتی‌ویروس‌های غلات در مناطق کشت این محصولات خطر بالقوه محسوب می‌شود و شناسایی این ویروس‌ها، روابط و منابع آن‌ها از اهمیت زیادی برخوردار است و بایستی تحقیقات بیشتر و جامعی در این زمینه صورت گیرد. هم‌افزایی از دیدگاه مدیریت بیماری‌ها دارای جنبه‌های مختلفی است. از جمله اینکه افزایش شدت علائم ممکن است موجب کاهش فراوانی کل میزبان یا توده میزبان شود و یا افزایش غلظت ویروس منجر به بالا رفتن پتانسیل میزبان به عنوان منبع اینوکلوم گردد. از طرفی هم‌افزایی همانطور که میزان خسارت را در میزبان‌های آلوده افزایش می‌دهد، موجب افزایش میزان انتقال ویروس بوسیله ناقلین نیز می‌شود (Hull 2002). احتمالا آلودگی توام دو ویروس MDMV و IJMV در مزارع ذرت، خسارت اقتصادی محصول را نسبت به آلودگی منفرد آن‌ها افزایش می‌دهد (Ford and Tosic 1972).

منابع

Allison RF, Dougherty WG, Parks TD, Willis L, Johnston RE, Kelly ME, Armstrong FB (1985) Biochemical analysis of the capsid protein of tobacco etch virus: N-terminal amino acids are located on the virion's surface. Virology 147: 309-316.

Christie RG, Edwardson JR (1986) Light microscope techniques for detection of plant virus inclusions. Plant Disease 70: 273.

Ford RE, Tosic M, Shukla DD (1989) Maize dwarf mosaic virus. CMI/AAB Descriptions of plant viruses, No.341.

Ford RE, Tosic M (1972) New hosts of Maize dwarf mosaic virus and Sugarcane mosaic virus and a comparative host range study viruses infecting corn. Phytopathology 75: 315-48.

Gordon DT, Bradfute OE, Gingery RE, Knoke JK, Louie R, Nault LR, Scott GE (1981) Introduction : History. Geographical distribution, pathogen characteristics and economic importance. Pp. 1-12. In: Viris and Virus like diseases of maize in the United states. Eds. Gordon DT, Knoke JK, Scott GE. South. Coop. Ser. Bull. 247. Ohio agricultural research and development center, Wooster Ohio. 110P.

Ha C, Coombs S, Revill PA, Harding RM, Vu M, Dale JL (2007) Design and application of two novel degenerate primer pairs for the detection and complete genomic characterization of potyviruses. Achieves of Virology 153:25-36.

Harrison BD (1981) Plant virus ecology: ingredients, interactions and environment influences. Annals of applied biology 99:195-209.

Hosseini A, Koohi habibi M, Izadpanah K, Mosahebi GH, Rubies-autonell C, Rattic C (2010) Characterization of a filamentous virus from Bermuda grass and its molecular, serological and biological comparison with Spartina mottle virus. Archieves of Virology 155:1675-80.

Hull R (2002) Matthews Plant Virology. Academic Press 1001 p.

Masumi M, Izadpanah K, Zare A (2005) Bermuda grass southern mosaic virus : a distinct potyvirus infecting several gramineous species in Iran. Parasitica, CODEN PARGAW 61:105-110.

Masumi M, Zare A, Izadpanah K (2011) Biological, serological and molecular comparisons of potyviruses infecting poaceous plants in Iran. Iranian Journal of Plant Pathology 47: 47-66.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.2.13.4]

Tosic M, Ford RE, Shukla DD, Jilka J (1990) Differention of Sugarcane, Maize dwarf, Johnsongrass and Sorghum mosaic viruses based on reactions of oat and some sorghum cultivars. Plant Disease 74:549-552.
Vanregenmortel MHV 2000 Virus taxonomy: The classification and nomenclature of viruses. The Seventh Report of the International Committee on the Taxonomy of Viruses. San Diego, USA. Academic Press. 1162p.

Mathews REF (1991) Plant virology. Academic press Inc, San Diago.835 pages.
Shukla DD, Tosic M, Jilka J, Ford RE, Toler RW, Langham M (1989) Taxonomy of potyviruses infecting maize, sorghum and sugarcane in Australia and the United States as determined by reactivities of polyclonal antibodies directed towards virus-specific N-termini of coat proteins. Phytopathology 79: 223-229.
Toler RW (1985) Maize dwarf mosaic, the most important virus disease of sorghum. Plant Disease 69:1011-1015.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.2.13.4]