ژنتیک نوین
دوره دهم، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۴
صفحه ۴۳۶-۴۲۹

تعیین نژادهای ویروس وای سیب زمینی (PVY) با استفاده از آزمون اختصاصی RT-PCR در مزارع سیب زمینی استان گلستان

Detection of potato virus Y (PVY) strains using RT-PCR in potato fields in Golestan province

سون‌آی بغدادی[۱]، سعید نصراله‌نژاد[۲]، فروه سادات مصطفوی نیشابوری*[۳]، محمدصفا بغدادی[۱]

۱- به ترتیب دانش‌آموخته و دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد دامغان
۲- دانشیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۳- دانشجوی دکتری، دانشگاه زابل

Baghdadi S[1], Nasrollanejad S[2], Mostafavi Neishaburi FS*[3], Baghdadi MS[1]

1. MSc Graduate and MSc Student, Islamic Azad University of Damghan
2. Associate Professor, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
3. PhD Student, Zabol university

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

(تاریخ دریافت: ۹۳/۱/۱۶- تاریخ پذیرش: ۹۴/۲/۱۵)

چکیده

ویروس وای سیب‌زمینی (Potato virus Y, PVY) یکی از رایج‌ترین و مخرب‌ترین ویروس‌های یافت شده در سیب‌زمینی بوده و پراکنش جهانی دارد. به طورکلی PVY دارای سه نژاد اصلی PVY^{N}، PVY^{C} ، PVY^{O} و دو نژاد نوترکیب PVY^{NTN} و PVY^{Wilga} می‌باشد. به منظور تعیین نژادهای این ویروس در استان گلستان نمونه‌برداری از مزارع سیب‌زمینی صورت گرفت. نمونه‌ها با روش الایزای غیرمستقیم با آنتی‌سرم اختصاصی PVY آزمون شدند. تهیه cDNA از نمونه‌های مثبت انجام شده و سپس واکنش RT-PCR انجام شد. محصول نهایی PCR تعیین ترادف شد و ترادف‌ها با ترادف سایر نژادهای PVY موجود در بانک ژن مقایسه شدند. سه نژاد PVY^{N}، PVY^{O} و PVY^{Wilga} برای اولین بار در این استان بر روی میزبان مذکور یافت شد. آنالیزهای فیلوژنتیک این جدایه‌ها نشان داد که نژاد-های PVY در چهار گروه مجزا قرار گرفته و نژادهای ایران بیشترین شباهت را با نژادهای کشورهای لهستان، آلمان، کانادا و برزیل داشت. نژاد PVY^{N} با ۶۴/۰۳ درصد پراکنش به عنوان نژاد غالب در مزارع سیب‌زمینی استان گلستان شیوع دارد.

واژه‌های کلیدی

نژاد
آنالیزهای فیلوژنتیک
اندامک درون‌هسته‌ای بزرگ
پروتئین پوششی
ویروس وای سیب‌زمینی

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-21]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1394.10.3.13.3]

مقدمه

ویروس وای سیب‌زمینی Potato virusY (PVY) از خانواده *Potyviridae* و جنس *Potyvirus* بوده و دارای پیکره رشته‌ای خمش پذیر به طول ۷۳۰-۶۸۴ نانومتر و عرض حدود ۱۱ نانومتر با تقارن مارپیچی می‌باشد، ژنوم ویروس از یک RNA تک رشته-ای مثبت با ۹۷۰۴ نوکلئوتید و وزن مولکولی $۱۰^{۶}\times$ ۳/۲-۳/۱ دالتون تشکیل شده‌است (Fanigliulo et al. 2005). این ویروس تنها یک ORF با حدود ۹۰۰۰ نوکلئوتید دارد. ساختار انتهای ′۵ آن دارای vpg و ساختار انتهای ′۳ آن دارای Cap می‌باشد. پوتی-ویروس‌ها گروه بزرگی از ویروس‌های گیاهی بوده که از نظر اقتصادی مهم و دارای دامنه میزبانی وسیعی می‌باشند (Pourrahim et al. 2007). ویروس Y سیب زمینی به طریق ناپایا توسط شته‌ها منتقل می‌شود. حداقل ۲۵ گونه شته قادر به انتقال PVY می‌باشند که در این میان شته سبز هلو (*Myzus persica*) کاراترین آنها می-باشد (Weavi 2000).

در حال حاضر ویروس وای سیب‌زمینی به‌عنوان مهم‌ترین ویروس خسارت‌زا در کشتزارهای سیب‌زمینی شناخته شده‌است (Chatzivassiliou et al. 2008) این موضوع در مزارع سیب‌زمینی در ایران نیز بررسی شده وPVY مهم‌ترین عامل کاهش بازدهی در سیب‌زمینی شناخته شده‌است و میزان خسارت بین ۱۰۰-۱۰ درصد گزارش شده‌است (Hosseini et al. 2011).PVY در طبیعت دارای چند نژاد مشخص بوده به طوری‌که پنج نژاد PVY^{O}, PVY^{C}, PVY^{NTN} PVY^{N} و PVY^{Wilga} تاکنون در دنیا گزارش شده‌است (Glais et al. 2002). این ویروس بسیاری از گونه‌های خانواده سولاناسه را آلوده کرده که در این میان محصولاتی مانند سیب‌زمینی، گوجه‌فرنگی، فلفل و توتون از خانواده بادمجانیان اهمیت بیشتری دارند، به علاوه بیش از ۶۰ گونه گیاهی مختلف دیگر از این خانواده و تعدادی از گونه‌های گیاهی خانواده‌های *Chenopodiaceae*، *Amarantaceae*، *Comopaceae*، *Fabaceae* نیز میزبان این ویروس می‌باشند (Moravec et al. 2003).علائم این ویروس برحسب سویه و رقم سیب زمینی کاملا متفاوت است. علائم ضعیف تا نکروز برگی شدید و مرگ بوته‌های آلوده ممکن است دیده شود. توسعه روش‌های مولکولی برای تمایز دقیق نژادهای PVY از سال ۱۹۸۰ شروع شد که بر این اساس دو نژاد نوترکیب جدید به نام‌های PVY^{NTN} و PVY^{NW} (Wilga) از دیگر نژادهای PVY متمایز شدند (Jacquot et al. 2005; Lorenzen et al. 2006; Kogovsek et al. 2008). نژادهای PVY^{N} و PVY^{O} بیشتر از سایر نژادها از سراسر جهان گزارش شده‌اند. نژاد PVY^{O} باعث ایجاد علائم موزاییک خفیف تا شدید و ریزش برگ‌ها در گیاه سیب‌زمینی و علائم موزاییک و ابلقی در برگ‌های توتون می‌شود. نژاد PVY^{N} باعث ایجاد علائم نکروز رگبرگ در توتون، ابلقی خفیف و گاهی نکروز برگها در گیاه سیب‌زمینی می‌شود. نژاد PVY^{C} باعث ایجاد علائم موزائیک، رگوز و نکروز در برخی ارقام سیب‌زمینی می‌شود (Nei and Singh 2002; Moravec et al. 2003; Tribodet et al. 2005; Lorenzen et al. 2006; Rigotti and Gugerli 2007; Schubert et al. 2007;). علائم ایجاد شده توسط PVY و دامنه میزبانی آن متنوع بوده که این ویژگی جهت طبقه‌بندی نژادهای PVY استفاده می‌شود (Khan and Dijkstra. 2002).

از جمله روش‌هایی که در شناسایی نژادهای این ویروس به‌کار رفته روش‌های بیولوژیک با استفاده از گیاهان افتراقی، روش سرولوژیکی الایزا و روش‌های مولکولی RT-PCR می‌باشد (Glais et al. 2002). در ایران نیز با استفاده از روش‌های مولکولی نژادهای این ویروس مربوط به مناطق مختلف شناسایی شده‌است. Taghavi (1988) نژادهای N و O را از منطقه کرج شناسایی کرد. نژاد N از منطقه تجرک همدان نیز گزارش شده‌است (Pourrahim et al. 2007). Khakvar et al. (2001) برای اولین بار در ایران نژادهای مشابه نژاد C را از استان خوزستان شناسایی و گزارش کردند. روش‌های مولکولی مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلیمراز نسخه‌برداری معکوس ابزاری دقیق و قابل اعتماد برای تمایز و شناسایی نژادهای ویروسی در تایید علائم و ردیابی آلودگی در بافت‌های گیاهی محسوب می‌شود، لذا در این تحقیق از روش RT-PCR برای تعیین نژادهای ویروس PVY در مزارع سیب زمینی استان گلستان استفاده شد.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-21]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1394.10.3.13.3]

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری از مزارع سیب‌زمینی

در طول فصل زراعی از ۲۵ مزرعه سیب‌زمینی در مناطق مختلف استان گلستان نمونه‌برداری به صورت تصادفی با حرکت قطری در مزارع صورت گرفت و تعداد ۲۸۱ نمونه برگی از گیاهان با علائم موزاییک، کلروز و نکروز شناسایی و جمع‌آوری و برای تست سرولوژیک استفاده شد و در صورتی که جواب مثبت بود در آزمون مولکولی مورد استفاده قرار گرفت.

آزمون الایزای غیر مستقیم

به منظور بررسی و تفکیک نمونه‌های سالم یا آلوده به ویروس وای سیب‌زمینی از آزمون الایزای غیرمستقیم با آنتی‌سرم پلی‌کلونال PVY با اصلاحاتی در روش Converse and Martin (1990) انجام شد. میزان واکنش‌های انجام شده با تعیین جذب نور در طول موج ۴۰۵ نانومتر با دستگاه (Microplate MR700 Dynatech) reader اندازه‌گیری شد. نمونه‌هایی که جذب آن‌ها بیش از چهار برابر میانگین جذب نمونه‌های سالم بود، به عنوان نمونه‌های آلوده شناخته شدند.

استخراج RNA و تهیه cDNA ویروس

۰/۵ گرم بافت آلوده برگ در ۳ برابر حجم بافر سیترات آمونیوم ۰/۱ مولار، pH ۶/۸ در میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتری عصاره‌گیری و سپس با ۳۰ درصد کلروفرم مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در $g \times$ ۶۰۰۰ سانتریفوژ شد و از مایع‌رویی برای به دام‌اندازی RNA ویروس توسط کیت mRNA capture (Roche) طبق دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد. در این کیت، میکروتیوب‌های ۰/۲ میلی‌لیتری با استرپتاویدین پوشش داده شد و RNA با متلاشی شدن پوشش پروتئینی ویروس آزاد شده و به‌علت داشتن دنباله poly A به مولکول‌های Biotin-labeled oligo dT (موجود در کیت) متصل شد. سپس از طریق بیوتین به استرپتاویدین متصل شده و به دام افتادند. RNA به دام افتاده در واکنش رونویسی معکوس (RT[1]) توسط dNTPs (10 mM) دو میکرولیتر، DTT (100 mM) (Dithiotreitol) دو میکرولیتر، Mmulv RT buffer (5X) ده میکرولیتر، Reverse primer (N1T) 10 µM سه میکرولیتر و آنزیم Mmulv Reverse Transcriptase (200 U/µl) (Fermentas) که با آب مقطر استریل به حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر رسانده شد به cDNA تبدیل شد. مخلوط واکنش RT به مدت یک ساعت در ۴۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و سپس در واکنش PCR مورد استفاده قرار گرفت.

آزمون واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)

برای انجام واکنش PCR از buffer (10X) ۲/۵ میکرولیتر، $MgCl_2$ (50 mM) ۰/۷۵ میکرولیتر، dNTPS (10 mM) ۰/۵ میکرولیتر، یک میکرولیتر آغازگر رفت و برگشت (10 mM)، آنزیم تک پلیمراز (5 U/µl) به میزان ۰/۲۵ میکرولیتر، cDNA دو میکرولیتر استفاده شد و حجم نهایی با آب مقطر استریل به ۲۵ میکرولیتر رسانده شد.

برنامه PCR متشکل از یک چرخه ۹۴ درجه‌سانتی‌گراد به مدت ۴ دقیقه به منظور واسرشته‌سازی اولیه و ۳۵ چرخه شامل واسرشته‌سازی در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، اتصال به مدت یک دقیقه در ۵۷ درجه‌سانتی‌گراد برای آغازگرهای رفت ′۳–CAACTCCAGATGGAACAATTG–′۵ و برگشت ′۳–CCATTCATCACAGTTGGC–′۵ و سنتز در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و به علاوه یک چرخه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه برای امتداد رشته‌ها صورت گرفت (Zinati et al. 2012). PCR در دستگاه Thermocycler شرکت اپندورف انجام شد.

ژل الکتروفورز به صورت زیر تهیه و در بررسی نتایج آزمون PCR استفاده شد. یک گرم آگارز در ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر TBE (۱۰/۸ گرم تریس، ۵/۵ گرم بوریک اسید و ۰/۷۳ گرم EDTA در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر، pH ۸) با جوشاندن حل شد. ۸ میکرولیتر از محصول PCR همراه با ۴ میکرولیتر رنگ کروزول رد[2] (۱۰ میلی‌مولار کروزول در سوکروز ده درصد) مخلوط و درون چاهک‌ها ریخته شد. یک چاهک هم به نشانگر اختصاص داده شد. سپس ولتاژ دستگاه در ۱۰۰ ولت تنظیم و به مدت حدود ۴۰ دقیقه الکتروفورز انجام شد. بعد از رنگ‌بری با آب مقطر، ژل بر روی صفحه UV Transilluminator بررسی شد و با استفاده از دستگاه Gel documentation از آن عکس‌برداری شد.

[1] Reverse transcription

[2] Cresol red

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-21]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1394.10.3.13.3]

مقایسه ترادف نوکلئوتیدی نژادهای PVY با ترادف‌های مشابه سایر نژاد های ویروس در بانک ژن

تعداد سه تکرار از محصول نهایی PCR از نمونه‌های هر منطقه، به منظور تعیین ترادف به شرکت ماکروژن کره جنوبی ارسال و تعیین ترادف شد. ترادف‌های به دست آمده در پایگاه اطلاعاتی NCBI با برنامه BLAST با ترادف‌های PVY موجود در بانک ژن مقایسه شد و پس از تایید صحت ویروس، ترادف‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار DNAMAN تجمیع شده و قسمت‌های هم‌پوشان حذف شد و توالی نهایی قطعات مورد نظر به دست آمد. این ترادف‌ها توسط برنامه Clustal X هم‌ردیف‌سازی و مقایسه شدند و مشابهت نوکلئوتیدی و آمینو اسیدی بین آنها در برنامه MegAlign محاسبه شد. درخت فیلوژنتیکی حاصل از هم-ردیف‌سازی ترادف‌ها توسط برنامه MEGA5 به روش Neighbor-joining با متد Kimura-2 به دست آمد (Kimura 1983). برای مقایسه نژادهای PVY ایران با یکدیگر و با سایر ا نژادهای دنیا از ترادف نوکلئوتیدی ناحیه تعیین ترادف شده استفاده شد. ابتدا تجزیه نژادهای PVY بر حسب کشور منشاء به طور جداگانه صورت گرفت و از بین نژاد های با مشابهت بالا تعدادی انتخاب شد (NCBI) و در نهایت برای ۳۳ نژاد از PVY ایران به همراه تعدادی از نژادهای سایر نقاط دنیا درخت فیلوژنتیک به دست آمده و تجزیه شد و گروه‌بندی جدایه‌ها نیز توسط برنامه MEGA5 انجام گرفت.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج حاصل از آزمون الایزا از ۲۸۱ نمونه مورد بررسی ۵۸ نمونه به ویروس وای سیب‌زمینی آلوده بودند و در اغلب گیاهان آلوده علائم موزاییک تا نکروز خفیف مشاهده شد.

از آغازگرهای اختصاصی برای تکثیر نواحی از ژن پروتئین پوششی (*CP*) و ژن پروتئین اندامک درون هسته‌ای بزرگ (*NIb*) ویروس وای سیب‌زمینی در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز استفاده شد و محصولات حاصل از هر جفت آغازگر (شکل ۱) بر روی ژل آگارز یک درصد تایید شد. استفاده از این آغازگرها باعث تکثیر قطعاتی با اندازه ۹۹۰ نوکلئوتید در واکنش RT-PCR شد که این باند مربوط به ویروس وای بوده و در همه نمونه‌هایی که در آزمون الایزا آلودگی آنها به PVY تایید شده بود دیده شد. پس از تعیین ترادف محصولات PCR، ترادف‌ها با اطلاعات موجود در GenBank در پایگاه اطلاعاتی NCBI و برنامه BLAST مقایسه شدند و صحت ویروسی بودن قطعات و شباهت آنها به ترادف-های PVY موجود در GenBank تایید شد.

همچنین پس از تجمیع قطعات به دست آمده و حذف قسمت‌های هم‌پوشان، ترادف نوکلئوتیدی قطعه‌ای به اندازه ۹۹۰ جفت باز شامل ژن‌های *CP* و *NIb* بدست آمد. تکثیر قطعات DNA به اندازه bp ۹۹۰ مربوط به PVY مطابق با اندازه مورد انتظار در تحقیق Zinati et al. (2012) برای شناسایی PVY می‌باشد.

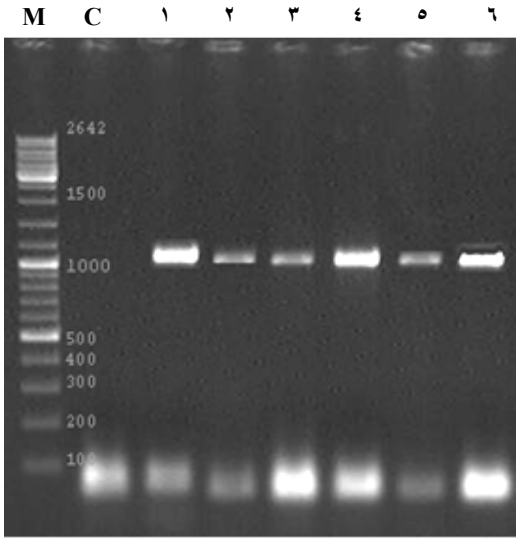
نتایج نشان داد که نمونه‌های آلوده به ویروس وای سیب‌زمینی در استان گلستان سه نژاد PVY^{N} ، PVY^{O}، PVY^{Wilga} بوده که برای اولین بار در این استان روی میزبان مذکور یافت شد. همچنین تجزیه‌های فیلوژنتیک جدایه‌های مورد بررسی در این تحقیق نشان داد که نژاد PVY^{N} با ۶۴/۰۳ درصد پراکنش به عنوان نژاد غالب در مزارع سیب‌زمینی استان گلستان شیوع دارد. در مقایسه نواحی مورد نظر از میان کلیه نژادهای تجزیه شده، نژادهای کردکوی و گالیکش شباهت بیشتری به یکدیگر داشتند (۹۹/۱ درصد) که باتوجه به مقایسات و محاسبات بیشترین درصد تشابه را با نژاد اصلی PVY^{Wilga} داشتند (جدول۱). در دندروگرام مربوط به مقایسه نژادهای ایران با سایر کشورهای دنیا نتایج نشان داد نژاد-های PVY در چهار گروه مجزا قرار گرفتند که همه نژادهای گلستان به جز نژاد آزادشهر در گروه چهار و در کنار نژادهایی از آلمان، لهستان، برزیل و کانادا بوده که این موضوع بیانگر رابطه نزدیک فیلوژنتیکی بین آنهاست. به دنبال آن به‌ترتیب نژادهای خوزستان، همدان و شیراز شبیه‌تر بوده و همگی در کنار سایر جدایه‌های دیگر از ایران در گروه یک قرار گرفتند. در ماتریس به دست آمده از مقایسه نژادها با یکدیگر نیز، نژادهای گلستان بیشترین شباهت را در میان نژادهای ایرانی با نژادی از بوشهر داشته به طوری‌که به میزان ۸۶ درصد شباهت در سطح نوکلئوتیدی مشاهده شد. همچنین نژادهای گلستان با سایر نژاد-های دنیا بیشترین شباهت را به میزان ۹۵ درصد در سطح نوکلئوتیدی با برزیل داشتند. در مقایسه نژادهای گلستان با

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-21]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1394.10.3.13.3]

جدول ۱- درصد تشابه نژادهای استان گلستان با نژادهای اصلی PVY در جهان

نژاد گلستان	مناطق	نژادهای اصلی	درصد تشابه	نام کشور
PVY1	علی آباد	PVY^{NTN}	۹۵/۱	برزیل
PVY2	آزادشهر	PVY^{N}	۹۴/۷	کانادا
PVY3	کردکوی	PVY^{Wilga}	۹۳/۱	آلمان
PVY4	گرگان	PVY^{N}	۹۴/۴	لهستان
PVY5	گالیکش	PVY^{Wilga}	۹۳/۳	آلمان
PVY6	مینودشت	PVY^{O}	۹۴/۴	برزیل

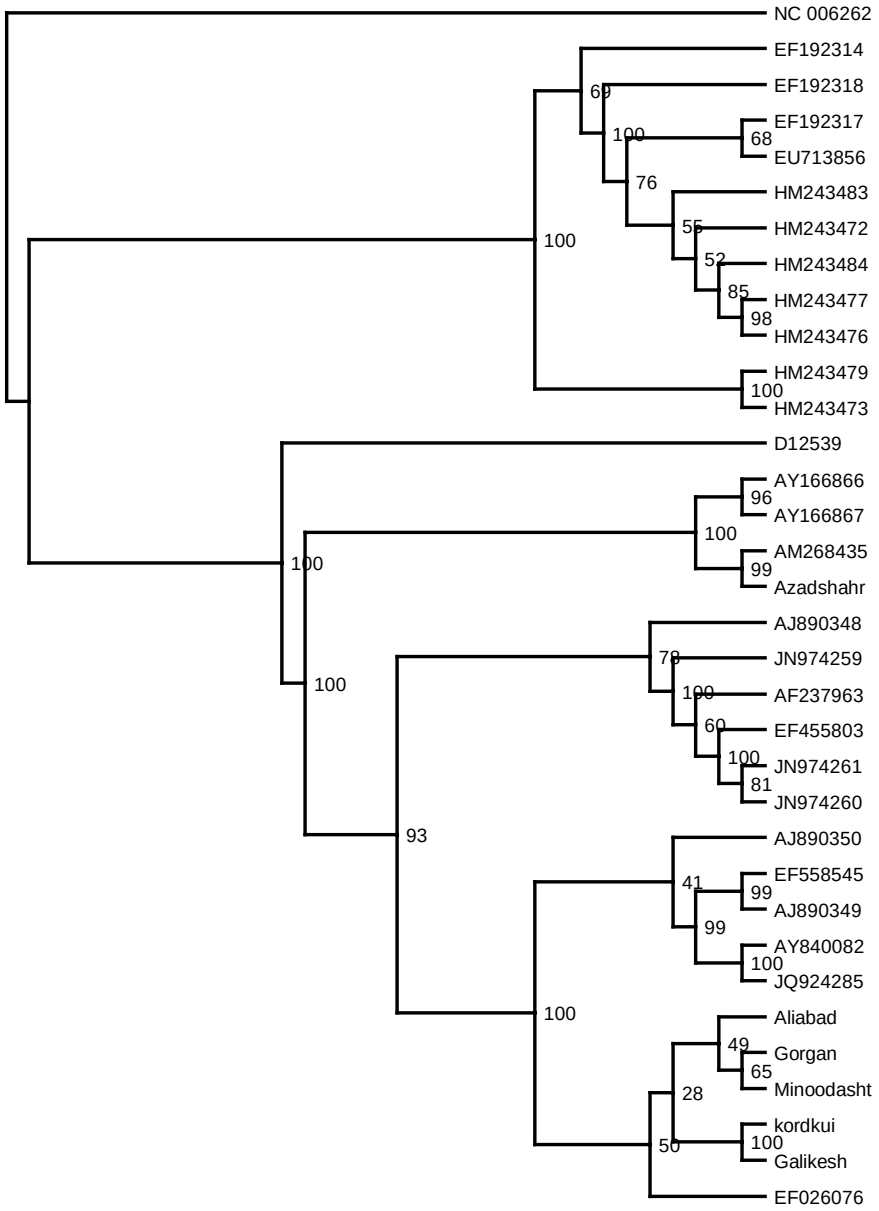


شکل۱- نتایج آزمون PCR در ژل آگارز چاهک ۱، ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶) به ترتیب باندهای حاصل از تکثیر قطعات مربوط به نژادهای کردکوی، گالیکش، آزادشهر، گرگان، علی‌آباد و مینودشت؛ چاهک M) نشانگر (نشانگر ۱۰۰ جفت بازی)؛ چاهک C کنترل منفی (آب مقطر)

یکدیگر نتایج نشان داد که نژاد گرگان و مینودشت در کنار نژاد علی‌آباد قرارگرفتند که همراه با نژادی از آمریکا در کنار نژادهای کردکوی و گالیکش قرار گرفتند. سه نژاد دیگر این استان که از میزبان توتون جداسازی شده بودند در گروه سه و در کنار کشورهای فرانسه، ایتالیا و ژاپن قرار گرفتند.

برای تمایز و تفکیک نژادهای ویروس وای سیب‌زمینی از روش‌های بیولوژیکی، سرولوژیکی و مولکولی استفاده می‌شود. استفاده از روش‌های بیولوژیکی قابل اطمینان ولی بسیار زمان‌بر و به شرایط آب و هوایی، رقم میزبان و فاصله زمانی تلقیح بستگی دارد. آزمون الایزا نیز با اینکه روشی زمان‌بر نیست اما تفکیک نژادها در این روش مشکل است و برخی نژادها ممکن است با پادتن تک همسانه‌ای نژاد دیگر واکنش مثبت نشان دهند (Majdabadi et al. 2011) اما روش RT-PCR برای تمایز و شناسایی نژادهای PVY روشی دقیق و سریع در تایید علایم و اثبات آلودگی در بافت‌های بدون علائم می‌باشد. در بررسی مشابه، نژاد نوترکیب PVY^{NTN} از مزارع سیب‌زمینی استان خراسان رضوی با روش RT-PCR از بافت‌های دارا و بدون علائم گزارش شده‌است (Majdabadi et al. 2011). همچنین با استفاده از روش‌های مولکولی وجود نژاد‌های O، N و C در استان آذربایجان شرقی مورد تایید قرار گرفته‌است (Musavi et al. 2010). در این تحقیق نیز آزمون RT-PCR به همراه آغازگرهای اختصاصی در شناسایی نژادهای PVY

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-21]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1394.10.3.13.3]



شکل ۲- درخت فیلوژنتیک رسم شده به روش Neighbour joining براساس ترادف نوکلئوتیدی قطعه ۹۹۰ جفت بازی نژادهای PVY ایران با سایر نژادهای موجود در بانک ژن، (ویروس موزائیک هندوانه (NC006262) به عنوان گروه خارجی در نظرگرفته شده‌است).

استفاده شد و مشخص شد این آزمون ابزار مناسبی در شناسایی نژادهای ویروس می‌باشد.

با وجود اینکه برخی از محققین معتقدند که ژن *CI* هم می‌تواند در تجزیه‌های فیلوژنتیکی در مواردی که امکان تعیین ترادف کامل ژنوم وجود ندارد، نماینده ژنوم کامل باشد و از آن در تجزیه‌های فیلوژنتیکی استفاده شود (Adams et al. 2005) اما بیشترین ترادف‌های ذخیره شده در GenBank به ناحیه CP اختصاص دارد. از طرفی بیشترین تعیین ترادف پوتی‌ویروس‌ها نیز بر روی ژن *CP* متمرکز شده و این ناحیه تنوع ویروس‌ها در گونه‌ها و نژادهایشان را به صورت مفیدی نشان می‌دهد (Shukla et al.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-21]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1394.10.3.13.3]

1994). هرچند بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق و نیز سایر محققین (Fanigliulo et al. 2005)، مشخص شد ناحیه *CP* ژنوم ویروس بهترین گزینه در جایگزینی اجزا پلی پروتئین‌های ویروس در مطالعات تاکسونومیکی به‌کار می‌رود، در این بررسی نیز از ترادف‌های ژن *CP* به‌همراه بخشی از ژن بالادست آن *NIb*، در مقایسه و آنالیز استفاده شد. در مورد شش نژاد استان گلستان (آزادشهر، علی آباد و کردکوی، گرگان، گالیش، مینودشت) مشاهده شد که کمترین فاصله ژنتیکی بین این نژادها وجود داشت. مقایسه دقیق‌تر نتایج مولکولی حاکی از وجود تفاوت‌های ژنتیکی نژادهای ایرانی و خارجی ویروس Y سیب‌زمینی بود. این مقایسات، حتی تفاوت‌های ژنتیکی را در بین نژادهای ایرانی نیز نشان داد که به احتمال زیاد بیانگر وقوع نوترکیبی بین نژادهای موجود، و ظهور نژادهای نوترکیب جدید از این ویروس می‌باشد. لذا وجود بیشترین تشابه نژادهای این تحقیق به نژاد PVY^{N} تا حدودی گویای همین مسئله است. از طرفی نتایج حاصل از تحقیقات سایر محققین نشان می‌دهد که امکان تغییر ژنتیکی ویروس وای سیب زمینی در میزبان‌های مختلف بسیار شدید است (Fanigliulo et al. 2005). نوترکیبی ژنتیکی ممکن است منجر به ظهور نژادهای جدید ویروسی شود که برخی ممکن است خصوصیات بیولوژیکی جدیدی داشته باشند مانند آنچه که در مورد PVY^{NTN} رخ داده‌است. از جمله نژادهای نوترکیب دیگر می‌توان به $PVY^{N-Wilga}$ اشاره کرد که ترادف پوشش پروتئینی (انتهای ′۳ ژنوم) آن مشابه PVY^{O} می‌باشد در حالی‌که این ویروس در انتهای ′۵ ژنوم خود و ایجاد علائم نکروز رگبرگی در توتون مشابه PVY^{N} است و در حقیقت نوترکیبی بین جدایه‌های PVY^{O} و PVY^{N} در سیب‌زمینی منجر به ظهور نژادهای PVY^{NTN} و $PVY^{N-Wilga}$ شده‌است (Glais et al. 2002). با توجه با اینکه نژاد PVY^{Wilga} برای اولین بار در استان گلستان گزارش می‌شود بنابراین این امکان وجود دارد که نژادهای جدید این ویروس در حال ظهور باشند، لذا شناسایی به‌موقع آنها و کنترل این ویروس می‌تواند از بروز سایر نژادها در استان جلوگیری به‌عمل آورد، همچنین با شناسایی نژادهای این ویروس در مزارع سیب‌زمینی استان گلستان، می‌توان برنامه‌ای مناسب جهت تهیه ارقام مقاوم سیب زمینی نسبت به این نژادها مد نظر گرفت.

منابع

Adams MJ, Antoniw JF, Beaudoin F (2005) Overview and analysis of the polyprotein cleavage sites in the family Potyviridae. Molecular Plant Pathology 6: 471-487.

Chatzivassiliou EK, Moschos E, Gazi S, Koutretsis P, Tsoukaki M (2008) Infection of potato crops and seeds with Potatovirus y and Potato leaf roll virus in Greece. Journal of Plant Pathology 90: 253 -261.

Converse RH, Martin RR (1990) ELISA methods for plant viruses. APS Press 179-196.

Danesh D, Solemanian S, Filsoph F, Deghan M (1993) Distribution of 4 potato virus in Esfahan potato field. Plant Disease 27: 23-32.

Fanigliulo A, Comes S, Pacella R, Harrach B, Martin DP, Crescenzi A (2005) Characterisation of potato virus Ynnp strain inducing veinal necrosis in pepper: a naturally occurring recombinant strain of PVY. Archives of Virology 150: 709-720.

Glais L, Tribodet M, Kerlan C (2002) Genomic variability in Potato VirusY (PVY): evidence that PVY^{NW} and PVY^{NTN} variants are single to multiple recombinants between PVY^{O} and PVY^{N} isolates. Archives of Virology 147:363-378.

Hosseini A, Massumi H, Heydarnejad J, Hosseini Pour A, Varsani A (2011) Characterisation of Potato virus Y isolates from Iran. Virus Genes 42 :128-140.

Jacquot E, Tribodet M, Croizat F, Sinibaldi V, Kerlan C (2005) A single nucleotide polymorphism based technique for specific characterization of Y^{O} and Y^{N} isolates of Potato virus Y(PVY). Journal of Virological Methods 125: 131-136.

Kogovsek P, Gow L, Novak M, Gruden K, Foster GD, Boonham N, Ravnikar M (2008) Single-step RT real time PCR for sensitive detection and discrimination of virus Y isolates. Journal of Virological Methods 141: 1-11.

Khakvar R, Shams bakhsh M, Pourrahim R (2001) Position of 6 important pathogen virus in potato fields in Khuzestan province. Pests and Plant Pathology Journal 73:25-37 (In Farsi).

Khan JA, Dijkstra J (2002) Plant viruses as molecular pathogens. Food Products Press 231-239.

Kimura M (1983) The Neutral Theory of Molecular Evolution.Cambridge: Cambridge University Press, UK.

Lorenzen JH, Piche LM, Gudmestad NC, Meacham T, Shiel P (2006) A multiplex PCR assay to characterize Potato virus *Y* isolates and identify strain mixtures. Plant Disease 90: 935-94.

Majdabadi Farahani S, Jafarpur B, Falahati Rastgar M, Sabokkhiz M (2011) Detection of PVY-NTN from potato virus Y in fields of Khorasan Razavi province. Journal of Plant Protection 24: 385-390 (In Farsi).

Moravec T, Cerovska N, Boonham N (2003) The detection of recombinant, tuber necrosing isolates of Potato virus Y (PVYNTN) using a three-primer PCR baced in the coat protein gene. Virology Method Journal 109: 63-68.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-21]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1394.10.3.13.3]

Musavi L, Mozafari J, Rakhshanderu F, Ghadamiari SH, Sokhandan N (2010) Molecular identify of potato virus Y strains by RT-PCR in Azarbaijanshargi province. In: Proccidings of 5th virology congress. Iran, Razi Serom Research Institute 180-181 (In Farsi).

Nie X, Singh RP (2002) Probable geographical grouping of PVY^{N} and PVY^{NTN} based on sequence variation in P1 and 5'-UTR of PVY genome and methods for differentiating North American PVY^{NTN}. Journal of Virological Methods 103: 145-156.

Pourrahim R, Farzadfar Sh, Golnaraghi AR, Ahoonmanesh A (2007) Incidence and distribution of important viral pathogens in some Iranian potato fields. Plant Disease 91:609-615.

Rigotti S, Gugerli P (2007) Rapid identification of potato virus Y strains by one –step triplex RT-PCR. Journal of Virological Methods 140: 90-94.

Schubert J, Fomitcheva V, Wisniewska JS (2007) Differentiation of *Potato virus Y* strains using improved sets of diagnostic PCR-primers. Journal of Virological Methods 140: 66-74.

Shukla DD, Ward CW, Brunt AA (1994) The *Potyviridae*. CAB international, Wallingford, UK.

Taghavi SM (1988) Survey and determinate of strain of potato virus Y in Karaj and Damavand region, University of Tehran, Iran (In Farsi).

Tribodet M, Glais L, Kerlan C, Jacqot E (2005) Characterization of *Potato virus Y* (PVY) molecular determinants involved in the vein necrosis symptom induced by PVYN isolates in infected *Nicotiana tabacum* cv.Xanthi. Journal of General Virology 86: 2101-2105.

Weavi, HL (2000) Importance and control of *Potato virus Y* (PVY^{N}) in seed Potato production. Potato Research 31: 85-94.

Zinati fakhrabad F, ahmadikhah A, nasrollahnejad S, Taghinasb M (2012) Sequencing of three isolates and prevalence of potato virus Y in tobacco field of Golestan province, Iran and phylogenetic comparison of the Iranian and world isolates. Iranian Journal of Plant Pathology 48:417-721. (In Farsi).

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-21]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1394.10.3.13.3]