پژوهش‌های کاربردی در گیاه‌پزشکی/ جلد ۵ شماره ۱/ سال ۱۳۹۵

ردیابی مولکولی و تعیین پراکنش ویروس موزائیک ایرانی قیاق در استان گلستان

الهام محمودی*[۱]، سعید نصراله نژاد[۲] و فروه سادات مصطفوی نیشابوری[۳]

۱-دانشجوی کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی، دانشکده تولید گیاهی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

۲- دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

۳- دانشجوی دکتری بیماری شناسی گیاهی دانشگاه زابل.

*مسئول مکاتبه:elhammahmodi55@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۲/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۴/۸/۹

چکیده

ویروس موزائیک ایرانی قیاق (*Iranian Johnson grass mosaic virus*, IJMV) یکی از مهمترین پوتی‌ویروس‌های غلات است و علائمی مانند موزائیک نواری و نوارهای نکروتیک قرمز را در ذرت، سورگوم و قیاق ایجاد می‌کند. در سال‌های اخیر این علائم به صورت وسیع در استان گلستان مشاهده شده است. با توجه به منشاء بومی و امکان بقاء این ویروس در میزبان‌های غیر زراعی و علف‌های هرز، و نیز اهمیت کشت غلات در استان گلستان، آگاهی از میزان گسترش آن، به ویژه در مناطق عمده کشت ذرت، ضروری است. در تحقیق حاضر به منظور ردیابی سرولوژیکی و مولکولی و تعیین پراکنش IJMV در استان گلستان، از گیاهان ذرت، سورگوم و برخی علف‌های هرزتیره غلات با علائم موزائیک و نوارهای نکروتیک قرمز در چهار مرحله نمونه‌برداری صورت گرفت. سپس برای تعیین آلودگی نمونه‌ها آزمون سرولوژیکی الایزا انجام شد. همچنین با استفاده از آزمون مولکولی RT-PCR و جفت آغازگرهای عمومی پوتی‌ویروس‌ها، بخشی از پروتئین پوششی ویروس تکثیر گردید. نتایج نشان داد که از بین ۳۵۰ نمونه، تعداد ١٦٤ عدد (٤٧ درصد) در آزمون الایزا واکنش مثبت و ١٨٦ نمونه واکنش منفی نشان دادند. بیشترین آلودگی در نمونه‌های ذرت دیده شد. همچنین نتایج حاصل از الکتروفورز محصول PCR بر روی ژل آگارز، نشانگر تکثیر قطعه-ای به اندازه مورد انتظار حدود ۳۲۷ جفت باز در نمونه‌های آلوده بود. هدف تحقیق حاضر تعیین پراکنش IJMV و میزان آلودگی مناطق مختلف استان گلستان به این ویروس بود که با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان گفت IJMV پراکنش وسیعی در استان گلستان دارد.

واژه‌های کلیدی: پوتی‌ویروس‌های غلات، ذرت، ویروس موزائیک ایرانی قیاق، RT-PCR.

مقدمه

پوتی‌ویروس‌ها بزرگترین جنس در خانواده پوتی-ویریده و نیز از نظر اقتصادی از مهم‌ترین ویروس‌های گیاهان تک لپه‌ای و دو لپه‌ای به شمار می‌روند (شوکلا و همکاران ۱۹۸۹a، فایوکیوت و همکاران ۲۰۰۵، دنگ و همکاران ۲۰۰۸). پوتی‌ویروس‌هایی که در غلات شناخته شده بودند، ابتدا براساس ویژگی‌های سرولوژیکی در چهار گروه شامل ویروس موزائیک نیشکر (*Sugarcane mosaic virus*, SCMV)، ویروس موزائیک کوتولگی ذرت (*Maize dwarf mosaic virus*, MDMV)، ویروس موزائیک سورگوم (*Sorghum mosaic virus*, SrMV) و ویروس موزائیک قیاق (*Johnson grass mosaic virus*, JGMV) قرار گرفتند (شوکلا و همکاران ۱۹۸۹ a,b). سپس ویروس‌های دیگر شامل ویروس موزائیک ذرت (*Zea mosaic virus*, ZeMV) از اسرائیل، ویروس موزائیک پنی‌سیتوم (*Pennisetum mosaic virus*, PeMV) از شمال چین، ویروس موزائیک مرغ (*Bermuda grass mosaic virus*, BgMV)، ویروس موزائیک جنوبی مرغ

(*Bermuda grass southern mosaic virus*, BgSMV)، ویروس موزائیک ایرانی قیاق (*Iranian Johnson grass mosaic virus*, IJMV) و ویروس علف دانه قناری نی مانند (*Reed canary grass mosaic virus*, RCGMV) از ایران به این گروه اضافه شدند (معصومی و همکاران ۱۳۸۳، ۱۳۹۰، فرح‌بخش و همکاران ۱۳۹۲، ذاکری و همکاران ۱۳۹۳،سیفرز و همکاران ۲۰۰۰، فن و همکاران ۲۰۰۳،زارع و همکاران ۲۰۰۵). همچنین قاسمی و ایزدپناه (۱۳۸٤) با استفاده از آزمون‌های سرولوژیکی، پوتی‌ویروس‌های مولد موزائیک غلات در ایران را به سه گروه شامل IJMV، SCMV و MDMV تقسیم کردند. منشاء اکثر پوتی-ویروس‌های غلات، قیاق و سایر علف‌های هرز تیره گندمیان می‌باشد (معصومی و همکاران ۱۳۹۰).

ذرت یکی از مهمترین غلات در دنیا است. بیش از ۵۰ ویروس در کشت این محصول محدودیت ایجاد می‌کنند (زامبرانو و همکاران ۲۰۱٤). از بین پوتی-ویروس‌های گزارش شده از ایران،IJMV مهم‌ترین عامل موزائیک ذرت می‌باشد (معصومی و همکاران ۱۳۹۰، ایزدپناه و همکاران ۲۰۰۵). این ویروس، اولین پوتی‌ویروس شناخته شده در ایران است که ابتدا توسط ایزدپناه از شیراز و از روی قیاق شناسایی و به دلیل واکنش خفیف با آنتی‌بادیSCMV-SD از آمریکا، به‌عنوان سویه‌ای از SCMV در نظر گرفته شد. سپس از ذرت، سورگوم و قیاق برخی مناطق کشور با علائم موزائیکی گزارش گردید (افشاریفر و ایزدپناه ۱۹۹٤). بعدها مشاهده شد که این ویروس بیشترین شباهت را (حدود ۸۰ درصد) با ZeMV دارد (معصومی و همکاران ۱۳۷۹) و براساس آزمون‌های سرولوژیکی و مولکولی به‌عنوان یک ویروس جدید در خانواده پوتی-ویروس‌ها قرار گرفت. اکنون IJMV در اکثر مناطق ایران به ویژه مازندران و گرگان به عنوان مهمترین ویروس روی ذرت محسوب شده و بومی این کشور می‌باشد (معصومی و همکاران ۱۳۹۰، ۱۳۹۱). ذاکری و همکاران (۱۳۹۳) نشان دادند که IJMV پراکنش وسیعی در شهر گرگان داردولی تاکنون پراکنش این ویروس در مناطق مختلف استان گلستان تعیین نشده است. ذرت و سورگوم میزبان‌های زراعی این ویروس، و منبع اصلی آلودگی آن‌ها قیاق و علف‌های هرز غلات می‌باشند، که روی قیاق گسترش وسیع دارد (معصومی و ایزدپناه ۱۳۷۹، زارع و همکاران ۱۳۸٤، حسینی و همکاران ۲۰۱۰). تحقیقات نشان داد که وجود نوعی پروتئین در گیاه ذرت و اثر متقابل آن با ناحیه VPg ژنوم پوتی‌ویروس، باعث تسهیل بیماریزایی آن در این گیاه می‌شود (ژو و همکاران ۲۰۱٤).

دو ویروس IJMV و MDMV همراه با یکدیگر در یک گیاه تکثیر می‌یابند و ممکن است اثر هم‌افزایی[1] بر یکدیگر داشته باشند. ولی بطور کلی میزان جذب نوری چاهک‌ها در آزمون الایزا در موردIJMV با استفاده از آنتی‌سرم این ویروس بیشتر از میزان جذب نوریMDMV با استفاده از آنتی‌سرم MDMV می-باشد (ذاکری و همکاران ۱۳۹۱). ویروس موزائیک ایرانی قیاق همانند MDMV توسط شته‌های *Rhopalosiphum maidis*، *R. padi* و *Schizaphis graminum* منتقل می‌شود. ولی برخلاف MDMV در گیاه ارزن مرواریدی تکثیر نمی‌یابد و این دو ویروس از این نظر قابل تفکیک می‌باشند (زارع و همکاران ۱۳۸۳، معصومی و همکاران ۱۳۹۰). علف‌های هرز تیره‌ی غلات ممکن است بقاء ویروس در شرایط نبود میزبان، و در نتیجه انتقال آن به کشت‌های جدید را موجب شوند. تحقیق حاضر با هدف ردیابی IJMV در استان گلستان از روی میزبان‌های مختلف، تعیین پراکنش آن در نقاط مختلف استان و نیز تعیین میزبان-های ترجیحی آن انجام شد.

مواد و روش‌ها

تعداد ۳۵۰ نمونه گیاهی از ذرت، سورگوم و قیاق با علائم موزائیک و نوارهای نکروتیک، و برخی بدون علائم مذکور، از نقاط مختلف استان گلستان جمع‌آوری

[1]Synergism

شدند. نمونه‌ها در یخچال نگهداری شده و در این آزمایش مورد بررسی قرار گرفتند. به منظور اطمینان از آلوده بودن نمونه‌های جمع‌آوری شده به ویروس موزائیک ایرانی قیاق (IJMV) از آزمون الایزای غیرمستقیم با آنتی‌بادی اختصاصی IJMV استفاده گردید (کانورز و مارتین ۱۹۹۰). میزان جذب نوری در چاهک‌های پلیت الایزا، با استفاده از دستگاه تشتک خوان الایزا Biotech مدل ELx800 (آمریکا) در طول موج ٤٠٥ نانومتر خوانده شد. سپس درصد آلودگی و میزان پراکنش IJMV در مناطق نمونه‌برداری شده، با توجه به تعداد نمونه‌های هر منطقه که در آزمون الایزا واکنش مثبت نشان دادند، طبق روش صارمی (۱۳۸۲) تعیین شد. همچنین برای تأیید نتایج آزمون الایزا، آزمون مولکولی RT-PCR انجام شد. به این منظور نمونه‌ها پس از عصاره‌گیری در سه حجم بافر سیترات آمونیوم ۰/۱ مولار، pH ٦/٥، بطور مستقیم با کلروفرم به نسبت ۳۰ درصد، تیمار و سانتریفیوژ شدند و از فاز رویی برای تهیه cDNA استفاده گردید. پس از رسوب با سیترات آمونیوم، استخراج RNA با استفاده از کیت mRNA Capture kit (Roche) طبق دستورالعمل سازنده انجام گرفت، از RNA جذب شده به لوله در واکنش نسخه‌برداری معکوس[1] با آنزیم Moloney murine leukemia virus,MmLV و آغازگر مخصوص OligodT برای تهیه cDNA استفاده گردید. واکنش RT با مخلوط کردن ۱۰ میکرولیتر بافر پنج برابر Expand RT، ٠/٤ میلی‌مولار DTT، ٠/٤ میلی‌مولار مخلوط dNTP، ۲۰ واحد آنزیم RNase inhibitor، ٠/٦ میکرومولار آغازگر OligodT و ۲۰ واحد آنزیم Expand RT تهیه گردید. مخلوط حاصل با افزودن آب به حجم ٥٠ میکرولیتر رسیده و در دمای ٤٢ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت یک ساعت نگهداری شد.

cDNA بدست آمده از واکنش RT با واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز[2] و توسط آغازگرهای عمومی پوتی‌ویروس‌ها (جدول ۱)، تکثیر شد (ماریه-جانه و همکاران ۲۰۰۰). مخلوط واکنش PCR شامل پنج میکرولیتر Taq DNA polymerase buffer (x۱۰)، ۱/٥ میلی‌مولار $MgCl_2$، ۰/۲ میلی‌مولار مخلوط dNTP، ٠/٤ میکرومولار از هر کدام از آغازگرهای رفت و برگشت (جدول ۱)، پنج واحد آنزیم Taq DNA polymerase (Cinagen, Iran) و سه میکرولیتر cDNA بود که با افزودن آب مقطر دو بار تقطیر استریل حجم آن به ٥٠ میکرولیتر رسانده شد.

برنامه PCR شامل یک چرخه ۹٤ درجه‌ی سانتی-گراد به مدت چهار دقیقه به منظور واسرشته سازی اولیه و ۳٥ چرخه شامل واسرشته سازی در دمای ۹٤ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، اتصال به مدت یک دقیقه در دمای مناسب برای آغازگرها (جدول ۱) و بسط در ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و به علاوه یک چرخه در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱٥ دقیقه برای امتداد رشته‌ها بود و در نهایت برای بررسی نتیجه تکثیر در الکتروفورز، ژل آگارز یک درصد مورد استفاده قرار گرفت و اندازه قطعه تکثیر شده با استفاده از مارکرهای مخصوص تخمین زده شد(شکل ۱). سپس محصول PCR به منظور تعیین ترادف با استفاده از آغازگرهای عمومی پوتی‌ویروس-ها، Oligo1n/Oligo2n، به شرکت ماکروژن (کره-جنوبی) ارسال شد. خالص‌سازی محصول PCR نیز قبل از توالی یابی توسط شرکت ماکروژن صورت گرفت. نتایج بلاست ترادف‌های به دست آمده در NCBI نشان‌دهنده تکثیر بخشی از ژن پروتئین پوششی[3] IJMV بود.

نتایج بررسی‌ها نشان داده است که برای تمایز گونه‌های نزدیک به یکدیگر بهتر است از ژن CP یا ژنوم کامل استفاده شود (معصومی و همکاران ۱۳۸٦، ۱۳۹۰).

[1]Reverse Transcription (RT)
[2]Polymerase Chain Reaction (PCR)
[3]Coat Protein (CP)

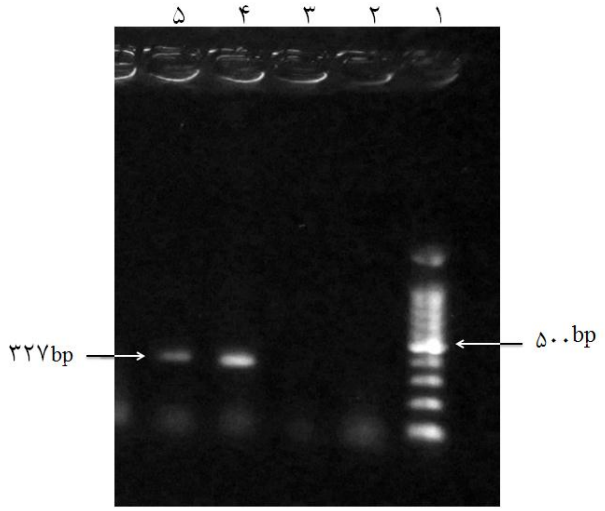
جدول۱- نام، ترادف، دمای اتصال و اندازه قطعه قابل تکثیر با آغازگرهای مورد استفاده در آزمون **RT-PCR**.

نام آغازگر	ترادف ´۳ ⟵ ´۵	جهت	اندازه محصول PCR	دمای اتصال (درجه‌ی سانتی‌گراد)	منبع
Oligo1n/Oligo2n	5'-atggtttggtgcattgagaatgg-3'	Forward	۳۲۷	۵۵	Marie-Jeanne et al. 2002
	5'-cagatgaaggccgcagca-3'	Reverse			

نتایج و بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که از بین ۳۵۰ نمونه گیاهی جمع‌آوری شده از ذرت، سورگوم و قیاق که برخی دارای علائم و برخی فاقد علائم بودند، تعداد ١٦٤ نمونه در آزمون الایزا آلودگی به IJMV را نشان دادند. پاسخ سایر نمونه‌های جمع‌آوری شده (١٨٦ عدد) در آزمون الایزا منفی بود. در میان مناطق مختلف نمونه‌برداری در استان گلستان، با توجه به درصد نمونه‌های مثبت در آزمون الایزا، مناطق گرگان و گنبد به ترتیب با ٦٨ و ٦٦ درصد بیشترین میزان آلودگی را به خود اختصاص دادند. کمترین میزان آلودگی نیز مربوط به غرب استان (بندرگز و کردکوی) بود. بیشترین آلودگی به IJMV در بین میزبان‌های مختلف مربوط به ذرت، و پس از آن به ترتیب قیاق و سورگوم بود. نتایج درصد آلودگی در بین نمونه‌های جمع‌آوری شده در هر منطقه از استان گلستان و میزان پراکنش IJMV در جدول ۲ آورده شده است. همچنین جدول ۳ پراکنش این ویروس را در شهر گرگان به تفکیک مناطق مختلف نمونه‌برداری نشان می‌دهد. طبق این جدول بیشترین پراکنش ویروس مربوط به دو منطقه توسکستان و تقی آباد به ترتیب با میزان آلودگی ۱۰۰ و ۹۵ درصد می‌باشد. نمونه‌های جمع‌آوری شده از منطقه دلند، هرچند دارای علائم موزائیک ویروسی بودند، اما در آزمون الایزا با آنتی‌بادیIJMV واکنش نشان ندادند. در نمونه برداری از سایر علف‌های هرز تیره گندمیان مانند دم‌روباهی و مرغ، آلودگی به IJMV در آزمون الایزا منفی بود، به استثناء منطقه خان‌ببین که نمونه های مرغ، در آزمون الایزا، آلوده به ویروس IJMV تشخیص داده شدند. از میان نمونه‌های جمع-آوری شده از ذرت و سورگوم، تنها نمونه‌های دارای علائم موزائیک به صورت نوارهای زرد به موازات برگ‌ها و نیز نوارهای نکروتیک قرمز رنگ (به‌ویژه در سورگوم) که از قاعده برگ‌ها شروع شده و به سمت انتها توسعه می‌یافت (شکل ۲)، در آزمون الایزا آلودگی به IJMV را نشان دادند. علائم در قیاق نیز به صورت خطوط نواری زرد رنگ در امتداد رگبرگ‌ها بود. اما در نمونه‌های جمع‌آوری شده از مرغ که تنها در منطقه خان‌ببین آلودگی نشان دادند، هیچ گونه علائمی مشاهده نشد.

نتایج تحقیقات نشان داده است که دو ویروس IJMV و MDMV به طور همزمان در یک گیاه تکثیر می‌یابند و هیچ گونه رابطه دگرپادی بین آن‌ها وجود ندارد (ذاکری و همکاران ۱۳۹۱، مصطفوی نیشابوری و نصرالله‌نژاد ۱۳۹۱). همچنین ذاکری و همکاران (۱۳۹۱) بیان کردند که علائم ایجاد شده در آلودگی توأم این دو ویروس علاوه بر موزائیک شامل نکروز نیز می‌باشد و ممکن است این دو ویروس اثر هم‌افزایی بر یکدیگر داشته باشند. در این تحقیق نیز نتایج آزمون مولکولی PCR در برخی نمونه‌های دارای علائم موزائیک و نکروز قرمز، وجود همزمان دو ویروس IJMV و MDMV را تأیید کرد.



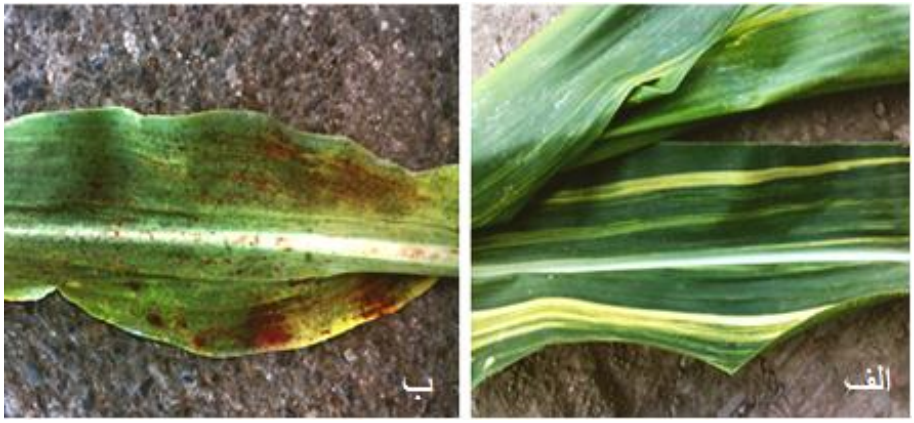
شکل ۱- نتایج آزمون PCR در ژل آگارز: راهک ۱ نشانگر100bp، GenRuler^{TM}100bp DNA Ladder از شرکت Fermentas و راهک ٤ و ٥ به ترتیب قطعات تکثیر شده مربوط به ویروس موزائیک ایرانی قیاق جداشده از ذرت و قیاق.

جدول۲- مناطق نمونه‌برداری در استان گلستان و درصد آلودگی هر منطقه به ویروس موزائیک ایرانی قیاق.

مناطق نمونه‌برداری	گیاه میزبان	تعداد نمونه‌ها	درصد آلودگی
گرگان	ذرت- سورگوم- قیاق	۱۱۸	٦٨
گنبد	ذرت- قیاق	٦٨	٦٦
آق‌قلا	ذرت- سورگوم	۲۷	۳۳
آزادشهر	ذرت- سورگوم	۱۷	۲۹
علی‌آباد	ذرت- سورگوم- قیاق	٦۳	۲٥
مینودشت	سورگوم- قیاق	۱۷	۲٤
بندرگز	ذرت- قیاق	۲٥	۲۰
کردکوی	ذرت	۱٥	۰

جدول۳- مناطق نمونه‌برداری درگرگان و درصد آلودگی هر منطقه به ویروس موزائیک ایرانی قیاق.

مناطق نمونه‌برداری	تعداد نمونه‌ها	درصد آلودگی
توسکستان	۱۲	۱۰۰
تقی‌آباد	۳۸	۹٥
مرزنکلاته	۹	٦۷
محمدآباد	۷	٥۷
جعفرآباد	۱۳	٥٤
قرق	۱٥	٤۷
عراقی‌محله	۱۸	٤٤
آهنگرمحله	٦	۰



شکل۲- موزائیک زرد نواری روی برگ ذرت (الف) و نکروز قرمز روی برگ سورگوم (ب) ناشی از آلودگی به ویروس موزائیک ایرانی قیاق.

علائمی نظیر ایجاد خطوط قرمز و نکروز شدید، ناشی از SCMV در سورگوم، و نیز حضور گسترده این ویروس روی قیاق در تهران گزارش شده است (محمدی و همکاران ۲۰۰٤، محمدی و حاجی‌اقراری ۲۰۰۹). بر اساس مشاهدات، عوامل مختلف مانند غلظت ویروس، شرایط گلخانه و سن گیاه نیز در ظهور علائم تأثیر دارند، ولی به‌طور کلی، IJMV نوارهای نکروتیک بیشتری نسبت به SCMV تولید می‌کند (معصومی و همکاران ۱۳۹۰). همچنین گفته می‌شود که ممکن است برخی استرین‌های خفیف SCMV فاقد علائم باشند (بالاراب و همکاران ۲۰۱٤). در نتیجه می‌توان علائم نکروز قرمز روی سورگوم در استان گلستان را ناشی از IJMV و یا آلودگی مخلوط آن با MDMV دانست. آلوده‌سازی بوته‌ها توسط IJMV و میزان جذب نوری چاهک‌ها در آزمون الایزا طبق یافته‌های ذاکری و همکاران (۱۳۹۱) نسبت به دو ویروس MDMV و BgSMV بیشتر بود. نتایج تحقیق حاضر نیز نشان داد که از بین نمونه‌های ذرت و سورگوم تعداد بیشتری از نمونه‌ها به IJMV آلوده بودند. همچنین معینی و ایزدپناه (۱۳۷۹) نشان دادند که درصد آلودگی به IJMVدر نمونه‌های قیاق نسبت به MDMV بیشتر می‌باشد.

با توجه به کشت وسیع و اهمیت ذرت به عنوان یکی از غلات پرمصرف، و پراکنش وسیع IJMV در کشور به ویژه در استان‌های شمالی، امکان گسترش بیشتر آن در آینده و ایجاد محدودیت در زراعت غلات پیش‌بینی می‌شود. بنابراین به منظور کاهش خسارت آن در مزارع ذرت استان گلستان، تعیین برخی ویژگی‌های بیولوژیکی این ویروس از قبیل پراکنش، دامنه میزبانی و میزبان‌های ترجیحی آن مستلزم بررسی می‌باشد. همچنین به دلیل انتشار و بقاء این ویروس در میزبان‌های غیر زراعی و افزایش میزان خسارت آن به دلیل انتقال همراه با MDMV توسط شته‌ها، شناخت راه‌های مدیریت این بیماری نیاز به مطالعه و بررسی بیشتر در این زمینه دارد. میانگین دمای مناطق نمونه‌برداری شده در استان طی ماه‌های نمونه‌برداری، بین ۲۱ تا ۲۹ درجه‌ی سانتی‌گراد متغیر بود. با توجه به اینکه گفته می‌شود خسارت ایجاد شده توسط ویروس‌های گیاهی در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری بیشتر است (شارما و میسرا ۲۰۱۱)، تأثیر دما بر شدت آلودگی مزارع ذرت به IJMV نیازمند بررسی بیشتر طی مدت طولانی می‌باشد.

منابع

ذاکری ع، مصطفوی نیشابوری ف س و نصرالله‌نژاد س، ۱۳۹۳. ردیابی سرولوژیکی و مولکولی دو ویروس مولد موزائیک در مزارع ذرت استان گلستان. ژنتیک نوین، دوره نهم، شماره ۲. صفحه‌های ۲٤٤-۲۳۹.

ذاکری ع، معصومی م، نصرالله‌نژاد س، قهرمانی ط و ایزدپناه ک، ۱۳۹۱. بررسی رابطه دگرپادی بین ویروس‌های موزائیک کوتولگی ذرت و موزائیک جنوبی مرغ. بیماری‌های گیاهی، جلد ٤۸، شماره ۳. ۳۵۲-۳٤۳.

زارع آ، معصومی م، حیاتی ج و ایزدپناه ک، ۱۳۸٤. خصوصیات سرولوژیکی و بیولوژیکی MDMV در ایران. خلاصه مقالات شانزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. تبریز.دانشگاه تبریز صفحه ۱۱۰.

صارمی ح، ۱۳۸۲. الگوی پراکنش گونه‌های فوزاریوم در اقلیم‌های مختلف. نشریه بیماری‌های گیاهی. سال ۳۹. شماره۲-۱. صفحه ۱٥٤.

فرح‌بخش ف، معصومی م، افشاریفر ع، ایزدپناه ک و راه‌پیما سروستانی ن، ۱۳۹۲. بررسی تنوع ژنتیکی جدایه-های ویروس موزائیک جنوبی مرغ براساس ترادف نوکلئوتیدی ناحیه '۳ ژنوم. بیماری‌های گیاهی، جلد ٤۹، شماره ۱. صفحه‌های ٦۱-٥٥.

قاسمی س و ایزدپناه ک، ۱۳۸٤. روش جدید خالص‌سازی و سرولوژی جدایه‌های پوتی‌ویروس از قیاق و نیشکردر ایران. بیماری‌های گیاهی، جلد ٤۱. صفحه‌های ۳۸۱-۳۷۹.

مصطفوی نیشابوری ف س، معصومی م و نصرالله‌نژاد س، ۱۳۹۱. بررسی رابطه تاکسونومیکی ویروس موزائیک کوتولگی ذرت جدایه استان گلستان با سایر پوتی‌ویروس‌های غلات براساس ترادف نوکلئوتیدی ناحیه '۳ ژنوم. ژنتیک نوین، دوره هفتم، شماره ٤. صفحه‌های ۳۹٦-۳۸۹.

مصطفوی نیشابوری ف س و نصرالله‌نژاد س، ۱۳۹۱. مقایسه مولکولی ناحیه '٥ ژنوم جدایه گلستان ویروس موزائیک کوتولگی ذرت (MDMV) با دیگر پوتی‌ویروس‌های غلات. زیست فناوری گیاهان زراعی، جلد ۲، شماره ۳. صفحه‌های ۳۳-۲٥.

معصومی م و ایزدپناه ک، ۱۳۷۹. پراکنش جغرافیایی و خصوصیات سرولوژیکی و فیزیولوژیکی ویروس موزائیک ایرانی قیاق. خلاصه مقالات اولین کنگره ویروس شناسی ایران. تهران، دانشگاه تهران، صفحه‌های ۳۲٦-۳۲٥.

معصومی م، ایزدپناه ک، و بهجت نیا س ع ا، ۱۳۷۹. موقعیت تاکسونومیکی ویروس موزائیک ایرانی قیاق. خلاصه مقالات اولین کنگره ویروس شناسی ایران. تهران، دانشگاه تهران، صفحه‌های ۱۳۷-۱۳٦.

معصومی م، حیدری س، قهرمانی ط، راه‌پیما سروستانی ن و ایزدپناه ک، ۱۳۹۱. بررسی رابطه اجدادی ویروس موزائیک ایرانی قیاق با سایر ویروس‌های غلات. صفحه ۸٦۷. خلاصه مقالات بیستمین کنگره گیاهپزشکی ایران.دانشگاه شیراز، شیراز.

معصومی م، زارع آ و ایزدپناه ک، ۱۳۸۳. تمایز جدایه‌های جغرافیایی ویروس موزائیک ایرانی قیاق از ویروس موزائیک زآ، براساس ترادف نوکلئوتیدی ناحیه '۵ ژن پروتئین پوششی. صفحه ۱۰۸. خلاصه مقالات شانزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران.دانشگاه تبریز، تبریز.

معصومی م، زارع آ و ایزدپناه ک، ۱۳۸٦. جایگاه تاکسونومیکی دو جدایه ایرانی ویروس موزائیک نیشکر براساس تعیین ترادف نوکلئوتیدی ناحیه '۳ ژنوم. بیماری‌های گیاهی، جلد ٤۳. صفحه‌های ۱٦-۱.

معصومی م، زارع آ و ایزدپناه ک، ۱۳۹۰. مقایسه بیولوژیکی، سرولوژیکی و مولکولی پوتی‌ویروس‌های گیاهان تیره غلات در ایران. بیماری‌های گیاهی، جلد ٤۷، شماره۱. صفحه‌های ٦٦-٤۷.

معینی ع ا و ایزدپناه ک، ۱۳۷۹. تشخیص و خالص‌سازی پوتی‌ویروس شبیه ویروس موزائیک کوتولگی ذرت (MDMV) در مازندران. بیماری‌های گیاهی، جلد ۳۷، شماره ۲-۱. صفحه‌های ۱٦۰-۱٤۷.

Afsharifar AR, and Izadpanah K, 1994. A type of sugarcane mosaic virus infecting maize, sorghum and Johnson grass in Iran. Iran Agricultural Research. 13: 33-47.

Balarabe DD, Adama Y, Azmat K, and Aisha ZM, 2014. Identification of virus isolates inducing mosaic of sugarcane in Makarfi Local Government Area of Kaduna State, Nigeria. African Journal of Biotechnology. 13: 1351-1357.

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

Deng CL, Wang WJ, Wang ZY, Jiang X, Cao YY, Zhou T, Wang FR, Li HF, and Fan ZF, 2008. The genomic sequence and biological properties of Pennisetum mosaic viru, a novel monocot-infecting potyvirus. Arch. Virol. 153: 921-927.

Fan Z, Chen H, Cai S, Dong C, Wang W, Liang X, and Li H, 2003. Molecular characterization of a distinct potyvirus from white grass in China. Arch. Virol. 148: 1219-1224.

Fauquet CM, Mayo MA, Maniloff J, Desselberger U, and Ball LA, 2005. Virus Taxonomy, Eighth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier Academic Press, London. 751-756.

Hosseini A, Koohi Habibi M, Izadpanah K, Mosahebi GH, Rubies-Autonell C, and Ratti C, 2010. Characterization of a filamentous virus from Bermuda grass and its molecular, serological and biological comparisons with Spartina mottle virus. Arch. Virol. 155: 1675-1680.

Izadpanah K, Masumi M, Ghasemi S, Zare A, and Afsharifar AR, 2005. Serological and molecular distinctness of Iranian Johnson grass mosaic virus. Parasitica. 61: 111-116.

Marei-Jeanne V, Loos R, Peyre J, Alliot B, and Signoret P, 2000. Differentiation of poaceae potyviruses by reverse transcription-polymerase chain reaction and restriction analysis. J. Phytopathol. 148: 141-151.

Mohammadi MR, and Hajieghrari B, 2009. Sugarcane mosaic virus: The causal agent of mosaic disease on sorghum (*Sorghumbicolor* L.) in Tehran province of Iran. African Journal of Biotechnology. 8: 5271-5274.

Mohammadi MR, Koohi Habibi M, Mosahebi GH, Mohammadi M, and Winter S, 2004. Identification of the prevalent potyvirus on maize in corn fields of Tehran province and a study on some of its properties. Proceeding of the 16th Iranian Plant Protection Congress. 117. Tabriz University, Tabriz.

Seifers DL, Salomon R, Marie-Jeanne V, Alliot B, SignoretP, Haber S, Loboda A, Ens W, She YM, and Standing KG, 2000. Characterization of a novel potyvirus isolate from maize in Israel. Phytopathology. 90: 505-513.

Sharma K, and Misra RS, 2011. Molecular approaches towards analyzing the viruses infecting maize (*Zeamays* L.). Journal of General and Molecular Virology. 3: 1-17.

Shukla DD, Jilka J, Tosic M, and Ford RE, 1989a. A novel approach to serology of potyviruses involving affinity purified polyclonal antibodies directed towards virus-specific N-termini of coat proteins. J. Gen. Virol. 70: 13-23.

Shukla DD, Tosic M, Jilka J, Ford RE, Toler RW, and Langham M, 1989b. 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.

Zambrano JL, Jones MW, Brenner E, Francis DM, Tomas A, and Redinbaugh MG, 2014. Genetic analysis of resistance to six virus disease in a multiple virus-resistant maize inbred line. Teor Appl Genet. 127: 867-880.

Zare A, Masumi M, and Izadpanah K, 2005. Bermuda grass mosaic virus: A distinct potyvirus infecting several geramineous species in Iran. Parasitica. 61: 105-110.

Zhu M, Chen Y, Ding XS, Webb SL, Zhou T, Nelson RS, and Fan Z, 2014. Maize Elongin C interacts with the viral genome-linked protein, VPg, of Sugarcane mosaic virus and facilitates virus infection. New phytologist. 203: 1291-1304.

Molecular Detection and Distribution of *Iranian Johnson grass mosaic virus* (IJMV) in Golestan Province

E Mahmudi *[1], S Nasrollahnejad[2] and FS Mostafavi neyshaburi[3]

[1]MSc Student, Department of Plant Pathology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
[2]Associate Professor, Department of Plant Protection, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
[3]PhD student, Department of Plant Pathology, Zabol University.
*Corresponding author: elhammahmodi55@yahoo.com

Received:10 Apr 2015 Accepted:31 Oct 2015

Abstract

Iranian Johnson grass mosaic virus (IJMV) is one of the most important cereal viruses and can cause viral symptoms such as stripe mosaic and red necrotic stripe in corn and sorghum. Recently, these symptoms widely observed in corn and sorghum fields of Golestan province. With regard to native origin and possibility of the virus survival in wild plant hosts and importance of the cereal cultivation in Golestan province, it is necessary to study its incidence, especially in important regions of corn growing farms. In this study, in order to serological and molecular detection and studying the distribution of IJMV in Golestan province, a total of 350 samples were collected from maize, sorghum and some weeds from poaceae family showing mosaic and red necrotic stripe symptoms in 4 stages. Infected samples were checked by ELISA test. A part of coat protein gene of IJMV was amplified in RT-PCR test using general primer pair of potyviruses. The result showed that through 350 samples, 164 (47 per-cent) showed positive reaction and 186 samples showed negative reaction in ELISA test. Maximum infection was in maize samples. The RT-PCR test led to amplification of expected fragment of 327 bp. The purpose of this study is determining of the distribution of IJMV and its extent of infection in different areas of Golestan province. According to the result of this study it has shown that IJMV has a high incidence in Golestan province.

Keyword: Cereal potyviruses, Iranian Johnson grass mosaic virus, Maize, RT-PCR.