

بررسی رابطه تاکسونومیکی ویروس موزاییک کوتولگی ذرت جدایه استان گلستان با سایر پوتی ویروس‌های غلات بر اساس ترادف نوکلئوتیدی ناحیه ۳/ ژنوم

Taxonomical relationship of maize dwarf mosaic virus, isolate of Golestan region of the genome province, with cereal potyviruses based on 3

فروه سادات مصطفوی نیشابوری^{۱*}، محمود معصومی^۲ و سعید نصراله نژاد^۳

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۲- استادیار مرکز تحقیقات ویروس شناسی گیاهی، دانشگاه شیراز

Mostafavi Neishaburi FS^{1*}, Masumi M², Nasrolahnejad S³

1,3. Graduate student, Associate Professor Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

2. Assistant Professor, Shiraz University of Plant Virology Research Center.

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

(تاریخ دریافت: ۹۰/۸/۱۰ - تاریخ پذیرش: ۹۱/۳/۲۳)

چکیده

ویروس موزاییک کوتولگی ذرت (Maize dwarf mosaic virus, MDMV) یکی از مهمترین و گسترده-ترین پوتی ویروس‌های ذرت در دنیا محسوب می‌شود. به منظور تعیین جایگاه تاکسونومیکی ویروس جدایه استان گلستان در میان پوتی ویروس‌های غلات و سایر سویه‌های MDMV و قرابت آن با سویه‌های سایر کشورها، گیاهان ذرت و قیاق با علائم موزاییک و کوتولگی در سال زراعی ۱۳۸۹ از مزارع استان گلستان جمع آوری شد. نمونه‌های آلوده به MDMV با آنتی سرم این ویروس در آزمون الایزای غیر مستقیم مشخص شد. نمونه آلوده به MDMV انتخاب و RNA ویروسی آن استخراج شده، سپس ناحیه ۳ ژنوم آن با استفاده از آغازگرهای عمومی پوتی ویروس‌ها و اختصاصی MDMV به روش RT-PCR تکثیر و همسانه سازی شد. ترادف استنتاجی ناحیه CP-UTR، قطعه‌ای به طول ۱۱۰۷ نوکلئوتید بود. این ترادف با ترادف سایر جدایه‌های MDMV موجود در بانک ژن و نیز پوتی ویروس‌های دیگر غلات مورد مقایسه قرار گرفت و درخت فیلوژنتیکی حاصل از این ترادف‌ها به روش neighbor-joining بدست آمد. در این تجزیه فیلوژنتیکی، ۴۶ ترادف در ۶ گروه شامل SrMV، ZeMV، PenMV، JGMV، SCMV و MDMV قرار گرفت و جدایه گلستان در کنار جدایه‌ای از کشور بلغارستان گروه مشترکی تشکیل دادند. نتایج این آزمایش نشان می‌دهد احتمالاً منشأ جدایه‌های MDMV در ایران کشورهای اروپایی یا بطور دقیق‌تر حوزه مدیترانه باشد.

واژه‌های کلیدی

پوتی ویروس،
تجزیه فیلوژنتیکی،
ویروس موزاییک کوتولگی ذرت،
MDMV
RT-PCR

مقدمه

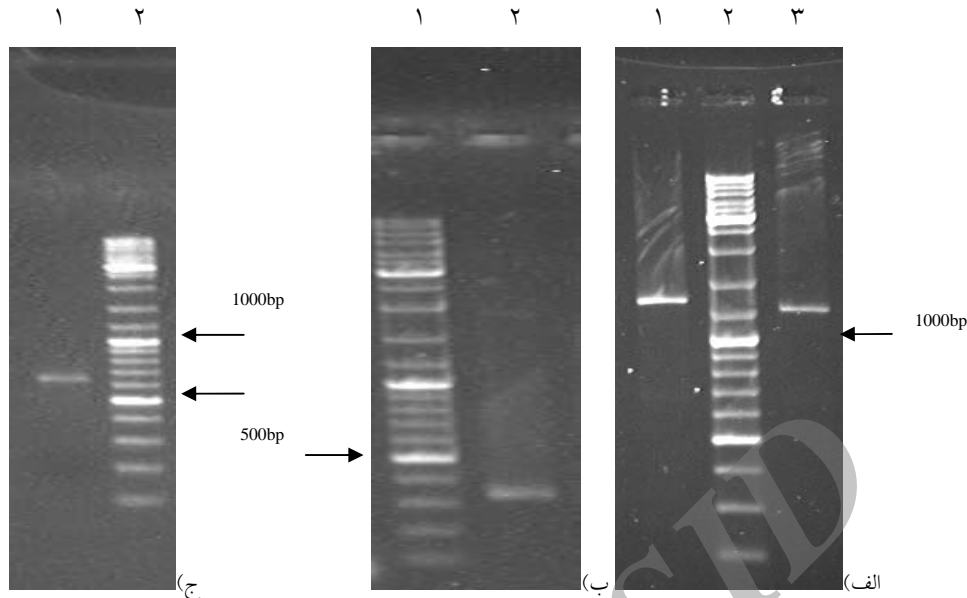
سرولوژیکی، این ویروس با MDMV رابطه نزدیک، با IJMV رابطه ای دور و با SCMV رابطه ضعیف داشت و با SrMV و JGMV فاقد واکنش بود (Moini et al. 2002). با استفاده از جفت آغازگرهای عمومی پوتی ویروس‌ها Pot1/Pot2 قسمتی از ژن CP و Nib و با جفت آغازگرهای اختصاصی MD3f/MD3r و MD1f/MD1r با استفاده از RT-PCR قسمتی از ژن CP عوامل مولد موزاییک در ذرت ساری و اصفهان تکثیر شد که پس از همسانه سازی و تعیین ترادف، وجود MDMV در استانهای مازندران و اصفهان مورد تایید قرار گرفت (Masumi et al. 2004). با استفاده از روشهای سرولوژیک و ترادف نوکلئوتیدی ناحیه CP-UTR، MDMV جدا شده از ذرت و قیاق مناطق دشت ناز ساری و اصفهان با سایر پوتی ویروس‌های غلات مورد مقایسه قرار گرفت (Zare et al. 2005).

خصوصیات ساختاری پروتئین پوششی پوتی ویروس‌ها مفید-ترین و مناسب‌ترین معیار برای تشخیص و طبقه‌بندی پوتی-ویروس‌ها می‌باشد، لذا در این تحقیق نیز جدایه گلستان ویروس MDMV جمع آوری شده از مزارع ذرت با استفاده از آنالیز مولکولی ناحیه CP-UTR مورد بررسی قرار گرفت و جایگاه تاکسونومی آن در میان سایر پوتی ویروس‌های غلات و سایر سویه‌های MDMV تعیین گردیده و خاستگاه ویروس و قرابت آن با سویه‌های سایر کشورها مشخص شد (Shukla et al. 1989).

مواد و روش‌ها

۳۵۰ نمونه گیاهی از ذرت و قیاق با علائم موزاییک و کوتولگی از نقاط مختلف استان گلستان جمع‌آوری شدند و آلودگی ۶۳ نمونه از آنها به MDMV با استفاده از آنتی سرم این ویروس در آزمون الایزای غیر مستقیم تایید شد (Converse et al. 1990). به منظور تعیین ترادف نوکلئوتیدی ناحیه ۳ ژنوم MDMV، ۰/۵ گرم از بافت آلوده یکی از نمونه‌ها پس از عصاره گیری در سه حجم بافر سیترات آمونیوم ۰/۱ مولار، pH-۶/۵ مستقیماً با کلروفرم به نسبت ۳۰ درصد تیمار و سانتریفوژ شد و از فاز رویی برای تهیه cDNA استفاده شد و RNA ویروس با استفاده از mRNA Capture Kit (Roche) طبق دستورالعمل سازنده استخراج شد و از RNA جذب شده به لوله برای واکنش نسخه

بیش از ۴۰ ویروس در ذرت بیماری ایجاد می‌کنند، ویروس موزاییک کوتولگی ذرت (Maize dwarf mosaic virus, MDMV) یکی از ویروس‌های مهم این گیاه در دنیا است. این ویروس در نقاط مختلف دنیا که میزبان‌های حساس آن رشد می‌کند وجود دارد و موجب ۸۰-۲۰ درصد کاهش محصول می‌شود (Cheng et al. 2002). MDMV، یک ویروس با RNA تک رشته‌ای مثبت با پیکره ای به ابعاد ۷۵۰ × ۱۳ نانومتر می‌باشد و به طور طبیعی با شته‌های سه زیرخانواده Lachninae، Drephonsiphinae و Aphidinae منتقل می‌شود که عضو جنس Potyvirus در خانواده Potyviridae می‌باشد (Shukla et al. 1988). این ویروس اولین بار در جنوب اوهایو در سال ۱۹۶۳ کشف شد (Williams et al. 1965). در سالهای بعد این بیماری در نقاط دیگر آمریکا و برخی کشورهای دیگر نیز مشاهده شد. احتمال دارد ویروس عامل بیماری همراه با توسعه کشت ذرت و سورگوم بخصوص در آمریکا و آفریقا پراکنش جهانی یافته باشد (Toler 1985; Ford et al. 1989). بر اساس ویژگیهای سرولوژیک پروتئین پوششی، استرین‌های پوتی ویروس‌های غلات را در ۴ گروه شامل ویروس موزاییک نیشکر (Sugarcane mosaic virus, SCMV)، ویروس موزاییک کوتولگی ذرت (Maize dwarf mosaic virus, MDMV)، ویروس موزاییک سورگوم (Sorghum mosaic virus, SrMV) و ویروس موزاییک قیاق (Johnson grass mosaic virus, JgMV) قرار دادند (Shukla et al. 1989). در سال‌های ۲۰۰۰ و ۲۰۰۳ به ترتیب ویروس موزاییک ذرت (Zea mosaic virus, ZeMV) از اسرائیل و ویروس موزاییک ارزن (Pennisetum mosaic virus, PeMV) از چین به این گروه اضافه شدند (Seifers et al. 2000; Fan et al. 2003). در ایران نیز ویروس موزاییک ایرانی قیاق (Iranian Johnson grass mosaic virus, IJMV) جز این گروه می‌باشد که بصورت گسترده در نقاط مختلف کشور وجود دارد (Masumi et al. 2002). در سال ۱۳۸۰ برای اولین بار پوتی ویروسی مشابه به MDMV را از منطقه دشت ناز ساری گزارش کردند و آن را سویه MM (maize mazandaran) نامیدند، بر اساس آزمون‌های



شکل ۱- نتایج آزمون PCR در ژل آگارز: (الف) راهک ۱ از چپ باند حاصل از آغازگر MD1F / MDMVG-SH راهک ۲ نشانگر، راهک ۳ باند حاصل از آغازگر MD3F / MDMVG-SH، (ب) راهک ۱ نشانگر، راهک ۲ باند حاصل از آغازگر oligo1n / oligo2n، (ج) راهک ۱ باند حاصل از آغازگر MD3F / MD1R، راهک ۲ نشانگر اندازه (نشانگر ۱۰۰ جفت بازی (Fermentas))

برنامه PCR شامل یک چرخه ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۴ دقیقه به منظور واسرشته سازی اولیه و ۳۵ چرخه شامل واسرشته سازی در ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت یک دقیقه، اتصال به مدت یک دقیقه در دمای مناسب برای هر جفت آغازگر (جدول ۱) و بسط در ۷۲ درجه به مدت یک دقیقه و به علاوه یک چرخه در دمای ۷۲ درجه به مدت ۱۵ دقیقه برای امتداد رشته‌ها بود و نتیجه تکثیر در الکتروفورز ژل آگارز یک درصد رویت شد (شکل ۱). محصول PCR بوسیله کیت Clone JET PCR Cloning (Fermentas, Lithuania) طبق دستورالعمل شرکت سازنده در پلاسمید pJET1.2 وارد و در باکتری *E. coli* استرین XL-Blue همسانه سازی شد. سپس پلاسمیدها با کیت استخراج پلاسمید طبق دستورالعمل High pure plasmid isolation kit (Fermentas) طبق دستورالعمل استخراج شد و به منظور تعیین ترادف به شرکت Techdragon (هنگ کنگ) ارسال شد، همچنین محصول PCR تعدادی از آغازگرها بوسیله PCR Purification kit (Bioneer) طبق دستورالعمل خالص سازی شد و برای تعیین ترادف به هنگ کنگ ارسال شد.

برداری معکوس با آنزیم Mmulv و آغازگر معکوس oligodT انجام شد. واکنش RT با مخلوط کردن ۱۰ میکرولیتر بافر ۵ برابر Expand RT (Roche) و ۰/۴ میلی مولار DTT، ۰/۴ میلی مولار مخلوط dNTP، ۲۰ واحد آنزیم RNase inhibitor، ۰/۶ میکرو مولار آغازگر oligodT و ۲۰ واحد آنزیم Expand RT تهیه شد. مخلوط حاصل با افزودن آب به حجم ۵۰ میکرولیتر رسانده و به مدت یک ساعت در دمای ۴۲ درجه سانتیگراد نگهداری شد. cDNA بدست آمده از واکنش RT با واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) توسط آغازگرهای اختصاصی طراحی شده از روی جدایه اروپایی و آغازگرهای عمومی پوتی ویروس ها تکثیر شد (Marie-Jeanne et al. 2000). مخلوط واکنش PCR شامل ۵ میکرولیتر Taq DNA polymerase buffer (۱۰ برابر)، ۱/۵ میلی مولار $MgCl_2$ ، ۰/۲ میلی مولار مخلوط dNTP، ۰/۴ میکرومولار از هر کدام از آغازگرهای رفت و برگشت (جدول ۱)، ۵ واحد آنزیم Taq DNA polymerase (سیناژن- ایران) و ۳ میکرولیتر DNA الگو بود که با افزودن آب مقطر دو بار تقطیر استریل حجم آن به ۵۰ میکرولیتر رسانده شد.

جدول ۱- نام، ترادف، دمای اتصال و اندازه قطعه تولید شده مربوط به آغازگرهای مورد استفاده در آزمون RT-PCR

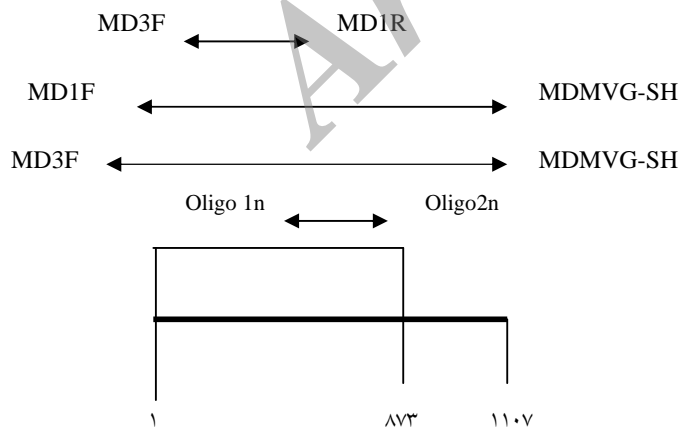
نام آغازگر	ترادف ۵' → ۳'	جهت	اندازه محصول PCR	دمای اتصال (درجه سانتی‌گراد)	رفرنس
MD1F/ MDMVG-SH	5'-ctaacttagcaaggaaggctcag-3' 5'-gagtttcgtggtagag-3'	Forward Reverse	۱۲۷۷	۵۹/۵	طراحی شده توسط نگارندگان
MD3F/ MD1R	5'-gatgaattgaatgtctatgcacga-3' 5'-ccaacttcagacaattatgca-3'	Forward Reverse	۶۳۶	۶۰	طراحی شده توسط نگارندگان
MD3F/ MDMVG-SH	5'-gatgaattgaatgtctatgcacga-3' 5'-gagtttcgtggtagag-3'	Forward Reverse	۱۱۹۲	۵۹/۵	طراحی شده توسط نگارندگان
Oligo1n/ Oligo2n	5'-atggtttggtgcattgagaatgg-3' 5'-cagatgaaggccgcagca-3'	Forward Reverse	۳۲۷	۵۵	Marie-Jeanne et al. (2000)

نتایج و بحث

علائم بیماری در گیاهان آلوده بصورت کوتولگی و موزاییک مشاهده شد. از ۳۵۰ نمونه ذرت و قیاق جمع آوری شده از مزارع ذرت استان گلستان ۶۳ نمونه تنها به MDMV آلوده بودند و سایر نمونه ها یا آلوده نبوده و یا MDMV مخلوط با IJMV بود. آغازگرهای عمومی و اختصاصی طراحی شده MDMV را در عصاره گیاهان آلوده، تشخیص داده و با استفاده از آنها در آزمون PCR موقعیت ژن CP شامل ۸۷۳ نوکلئوتید و ناحیه ترجمه نشدنی ۳ در این جدایه مانند سایر پوتی ویروس‌ها دارای دنباله پلی A می‌باشد که متشکل از ۲۳۴ نوکلئوتید بدست آمد. موقعیت قطعات بدست آمده از PCR با آغازگرهای مختلف در شکل ۲

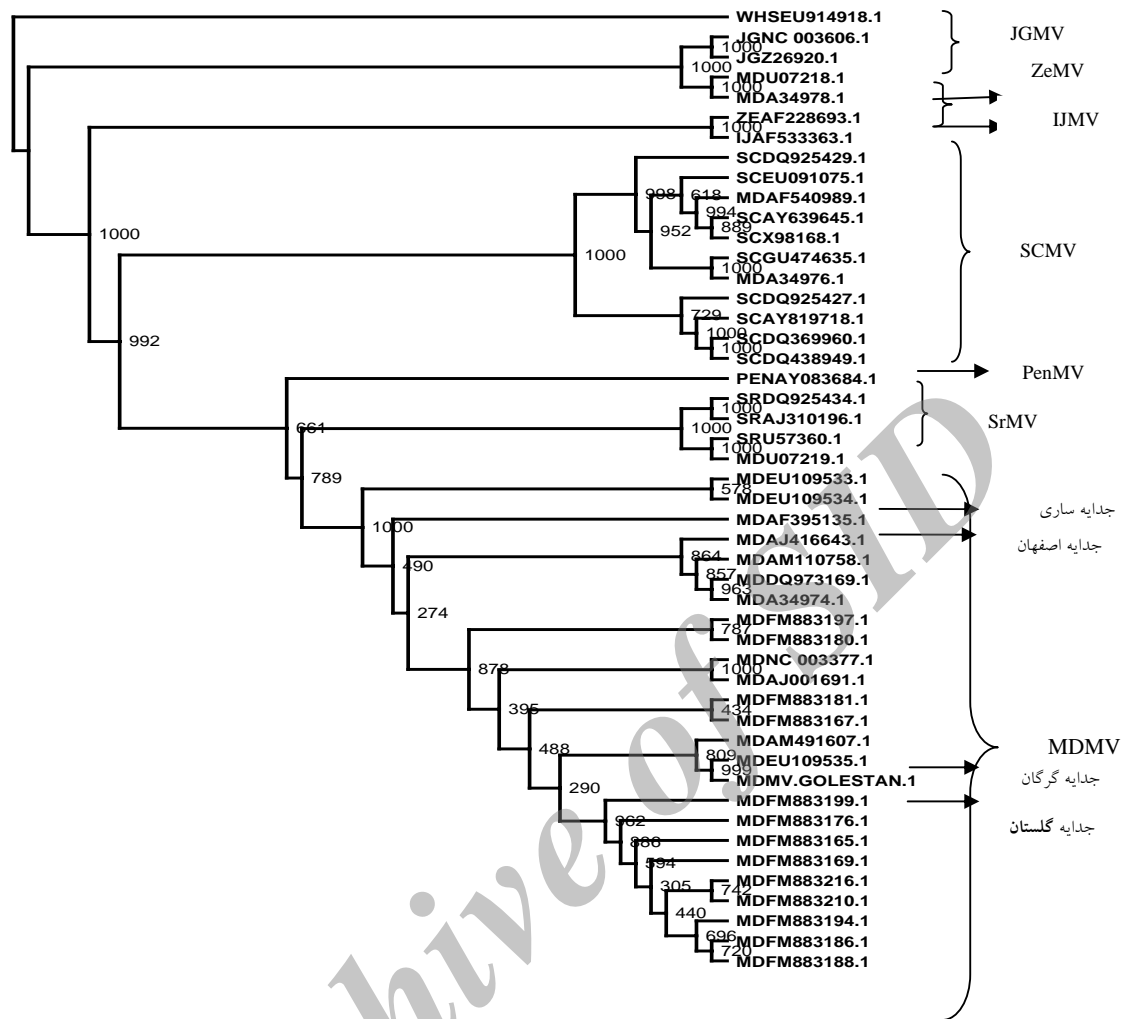
تجزیه فیلوژنتیکی

پس از ادغام ترادف‌های بدست آمده از کلونی‌ها و محصول PCR هر قطعه، ترادف استنتاجی با استفاده از نرم افزارهای DNAMAN و Editseq بدست آمد، این ترادف‌ها با ترادف سایر جدایه‌های MDMV موجود در بانک ژن و نیز دیگر پوتی ویروس‌های غلات توسط برنامه Clustal X هم‌ردیف و مقایسه شد و مشابهت نوکلئوتیدی و آمینو اسیدی بین آنها در برنامه MegAlign محاسبه شد. درخت فیلوژنتیکی حاصل از هم‌ردیف سازی ترادف‌ها توسط برنامه MEGA5 به روش Neighbor-joining با متد Kimura-2 بدست آمد و به وسیله نرم افزار Treeview نیز مشاهده شد (Kumar et al. 2004). در این تجزیه‌ها ویروس موزاییک رگه‌ای گندم (*Wheat streak mosaic virus, WSMV*) به عنوان Outgroup استفاده شد.



شکل ۲- شکل شماتیک ناحیه ۳ ژنوم ویروس موزاییک کوتولگی ذرت، موقعیت قطعات تکثیر شده با جفت آغازگرها.

برای مقایسه جدایه‌های MDMV با جدایه‌های سایر پوتی ویروس‌های غلات از ترادف نوکلئوتیدی ژن کامل CP- و CP-UTR استفاده شد. ابتدا ژن CP برای تمام جدایه‌های MDMV موجود در بانک ژن بر حسب کشور منشأ بطور جداگانه صورت گرفت و از بین جدایه‌های با مشابهت بالا تعدادی انتخاب شد (NCBI) و در نهایت برای ۲۴ جدایه از MDMV و ۲۲ جدایه از سایر پوتی ویروس‌های غلات درخت فیلوژنتیکی بدست آمده و تجزیه شد.



شکل ۳- درخت فیلوژنتیک رسم شده به روش neighbor-joining بدست آمده از همردیف سازی ۱۱۰۷ نوکلئوتید از ژن پروتئین پوششی و ناحیه ترجمه نشدنی از جدایه‌های MDMV و سایر پوتی ویروس‌های غلات.

اروپایی است، همچنین در این ناحیه بیشترین شباهت جدایه گلستان به جدایه ای از ویروس موزاییک سورگوم ۷۷/۵ درصد بود. ارتباط نزدیکتر جدایه‌های ویروس موزاییک کوتولگی ذرت با جدایه‌های موزاییک سورگوم در درخت فیلوژنتیکی مشابه نتایج تجزیه‌های فیلوژنی انجام شده در گذشته است (Yang et al. 1997). طرح‌های حفاظت شده DAG در ناحیه آمینی CP که در همه پوتی ویروس‌ها برای انتقال با شسته وجود دارد در جدایه گلستان نیز مشاهده شد. همچنین طرح حفاظت شده MVWCIENG در ناحیه مرکزی CP نیز در این جدایه و در سایر

مشخص شده است. قطعات تکثیر شده شامل ناحیه ژن پروتئین پوششی (موقعیت ۱ تا ۸۷۳) و ناحیه ترجمه نشدنی ۳ از نوکلئوتید ۸۷۷ تا ۱۱۰۷ می‌باشد و کدون پایانی TGA در موقعیت ۸۷۴ تا ۸۷۶ قرار دارد (شکل ۲). با توجه به آزمایش‌ها و آنالیزهای انجام شده در این تحقیق، ویروس موزاییک کوتولگی ذرت جدا شده از استان گلستان در درخت فیلوژنتیک ترسیم شده در کنار جدایه دیگری از این منطقه که مترادف ۵۱۳ جفت باز آن تعیین شده بود (شمار EU109635) و جدایه‌ای از کشور بلغارستان قرار گرفت که دارای شباهت ۹۶/۱ درصد در سطح نوکلئوتیدی با آن بود که این مسئله نشان دهنده شباهت زیاد این ویروس با جدایه

جدول ۲- محل و رس شمار جدایه‌های مورد استفاده در آنالیزهای فیلوژنتیک

نام جدایه	کشور	شماره ژنوتیپ (Accession number)
MDMV-SP	اسپانیا	AJ536725
MDMV-Arg	آرژانتین	DQ973169
MDMV- Mv0814	مجارستان	FM883177
MDMV- Mv0801	مجارستان	FM883164
MDMV- Mv0702	مجارستان	FM883200
MDMV- SP	اسپانیا	AM110758
MDMV -Israeli	اسرائیل	AF395135
MDMV- Mv0804	مجارستان	FM883167
MDMV- Sari strain="A	ایران(اصفهان)	EU109534
MDMV- Mv0614	مجارستان	FM883197
MDMV- Mv0817	مجارستان	FM883180
MDMV- Bulgaria	بلغارستان	AJ001691
MDMV- Sz0801	مجارستان	FM883181
MDMV-Sumen	بلغارستان	AM491607
MDMV- Gorgan	ایران(گرگان)	EU109535
MDMV- Mv0621	مجارستان	FM883199
MDMV- Mv0802	مجارستان	FM833165
MDMV- Mv0813	مجارستان	FM883176
MDMV- Mv0806	مجارستان	FM883169
MDMV- Sz0808	مجارستان	FM883188
MDMV- Sz0610	مجارستان	FM883216
MDMV- Sz0814	مجارستان	FM833194
MDMV- Sz0806	مجارستان	FM833186
MDMV- Sz0604	مجارستان	FM833210
MDMV-GOLESTAN	ایران (گلستان)	JQ280313
JGMV	استرالیا	NC-003606
JGMV	استرالیا	Z26920
JGMV	امریکا	U07218
JGMV	امریکا	A34978
ZeMV	اسرائیل	AF228693
IJMV	ایران	AF533363
SCMV	ویتنام	DQ925429
SCMV	چین	AF540989
SCMV	چین	DQ369960
SCMV	مکزیک	EU091075
SCMV	آلمان	X98168
SCMV	چین	AY639645
SCMV	مکزیک	GU474635
SCMV	ویتنام	DQ925427
SCMV	برزیل	AY819718
SCMV	ایران	DQ438949
PenMV	چین	AY083684
SrMV	ویتنام	DQ925434
SrMV	چین	AJ310196
SrMV	تگزاس	U57360
SrMV	امریکا	U07219

طول سال‌ها قیاق توانسته با بذر به نقاط مختلف دنیا گسترش یابد. پراکنش محدود MDMV در ایران (مازندران و اصفهان) این باور را ایجاد می‌کند که این ویروس منشاء غیر بومی داشته باشد (Masumi et al. 2004). در مورد جدایه‌های موجود از MDMV در ایران مشاهده شد که فاصله ژنتیکی کمی بین آنها و جدایه‌های اروپایی وجود دارد و میزان شباهت ژنتیکی بین آنها زیاد (بالای ۹۰ درصد) است. این موضوع در مورد جدایه‌های اروپایی با یکدیگر نیز مشخص است، مانند جدایه‌های مجارستان که تشابه بسیار بالایی تا حد ۱۰۰ درصد با هم دارند و از فاصله ژنتیکی بسیار کمی برخوردارند. آنچه از این مسئله استنباط می‌شود گسترش وسیع و سریع این ویروس در یک منطقه است که فرصت تنوع ژنتیکی پیدا نمی‌کند. پایین بودن تنوع ژنتیکی نشان می‌دهد که MDMV در اروپا یک جمعیت مونوفیلیتیک است و علیرغم پراکنش وسیعی که دارد کمتر دچار تنوع شده است، لذا از قدمت تکاملی کمتری برخوردار است. با توجه به اهمیت گیاه ذرت از لحاظ زراعی و گسترش بیماری‌های ویروسی در این گیاه اطلاع از خاستگاه این بیماری‌ها و ورود یا عدم ورود آنها از سایر کشورها به هر طریق و در مورد MDMV به خصوص از طریق بذر الزامی به نظر می‌رسد تا در صورت غیر بومی بودن بیماری، بررسی بذور ارقام وارداتی و تدابیر قرنطینه‌ای لازم صورت گیرد. شاید ارتباط جدایه ایران با جدایه‌هایی از منطقه آسیا نزدیکتر باشد و تعیین ترادف جدایه‌های بیشتری از این ویروس در نقاط مختلف دنیا می‌تواند در پیدا کردن منشا اصلی تکامل جدایه ایران نقش بسزایی داشته باشد.

منابع

- Cheng J, Chen J, Chen J (2002) The complete sequence of a Sugarcane mosaic virus isolate causing Maize dwarf mosaic disease in China. *Journal of Science in China* 45: 322-330.
- Converse RH, Martin RR (1990) ELISA methods for plant viruses, APS Press, 179-196.
- Fan Z, Chen H, Cai S, Dong C, Wang W, Liang X, Li H (2003) Molecular characterization of a distinct potyvirus from whitegrass in China. *Arch Virol* 148: 1219-1224.
- Ford RE, Tosic M, Shukla DD (1989) Maize dwarf mosaic virus. *CMI/AAB Description of Plant Viruses*, No. 341.

پوتی ویروس‌های بررسی شده وجود داشت. به دلیل اهمیت ذرت به عنوان یکی از پر مصرف ترین غلات کشور شناخت ویروس‌های بیمارزا در این گیاه همواره از مسائل مورد توجه محققین بوده است.

ویروس موزاییک کوتولگی ذرت از جمله بیماریهای مخرب این محصول و یکی از مهمترین پوتی ویروس‌های ذرت می‌باشد که در نقاط مختلف دنیا که میزبانهای حساس آن رشد می‌کند وجود دارد و باعث افت محصول می‌شود (Cheng et al. 2002).

در ایران مطالعات محدودی در مورد این ویروس انجام شده است و ترادف نوکلئوتیدی بخشهای کوچکی از ژنوم جدایه‌های استانهای مازندران و اصفهان تعیین شده است. بیماری موزاییک ناشی از پوتی ویروس‌های غلات در استان‌های مازندران و گلستان گسترش وسیعی دارد. تاکنون دو ویروس MDMV و IJMV بعنوان عامل این موزاییک در منطقه شناخته شده‌اند (Masumi et al. 2002). وجود موتیف‌های حفاظت شده در ترادف های آمینو اسیدی در ژن پروتئین پوششی MDMV این جدایه تاییدی بر قرار گرفتن این گونه در جنس پوتی ویروس می‌باشد. ارتباط نزدیکتر جدایه‌های ویروس موزاییک کوتولگی ذرت با جدایه‌های موزاییک سورگوم و فاصله آنها از ویروس موزاییک قیاق در درخت فیلوژنتیکی مشابه نتایج آنالیزهای فیلوژنی انجام شده در گذشته می‌باشد (Seifers et al. 2000). تعیین جایگاه تاکسونومیکی سویه ایرانی MDMV و مقایسه آن با سایر سویه های دنیا می‌تواند منشا تکاملی و پیدایش این سویه در ایران را روشن سازد و شباهت‌های این سویه با سویه‌های اروپایی بنظر می‌رسد احتمالاً MDMV در ایران منشا خارجی داشته باشد. قرار گرفتن سایر جدایه‌های ایرانی MDMV (اصفهان و ساری) در کنار جدایه اسرائیل احتمال ورود این ویروس از سایر کشورها به ایران را تقویت می‌کند. با توجه به بذر زاد بودن ویروس موزاییک کوتولگی ذرت احتمال ورود بذرهای آلوده از سایر مناطق دنیا به ایران و در نتیجه انتقال بیماری نیز وجود دارد که این انتقال می‌تواند با بذر قیاق نیز صورت گرفته باشد زیرا که در همه مزارع ذرت آلوده به MDMV علف هرز قیاق آلوده به آن نیز وجود داشت و در

- Kumar S, Tamura K, Nei M (2004) MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. *Briefings Bioinform* 5:150-163.
- Marie-Jeanne V, Loo R, Peyre J, Alliot B, SIGNORET P (2000) Differentiation of poaceae potyviruses by reverse transcription- polymerase chain reaction and restriction analysis. *J Phytopathol* 148: 141-151.
- Masumi M, Zare A, Izadpanah K (2002) Geographical distribution and serological and physicochemical properties of Iranian Jhonsongrass mosaic virus. In: *Proceeding of the first Iranian virology Congress*. Iran, Tehran 325-326. (In Farsi).
- Masumi M, Zare A, Izadpanah K (2004) Analysis of 5' region of coat protein gene confirms presence of Maize dwarf mosaic virus (MDMV) in widely separated location in Iran. In: *Proceeding of the secondary Iranian virology Congress*. Iran, Tehran, 369-370. (In Farsi).
- Moini A, Izadpanah K (2002) Identification and purification of a MDMV-like potyvirus of maize in Mazandaran. *Plant Pathology* 37: 147-159. (In Farsi).
- Zare A, Masumi M, Izadpanah K (2005) Serological and biological properties of MDMV in Iran. In: *Proceeding of the 16th Iranian plant protection Congress*. Iran, Tabriz, 110. (In Farsi).
- NCBI (2011) National center for biotechnology information. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
- Seifers DL, Salomon R, Marie-Jeanne V, Alliot B, Signoret P, Haber S, Loboda A, Ens W, She YM, Standing KG (2000) Characterization of a novel potyvirus isolated from maize in Israel. *Phytopathology* 90: 505-513.
- Shukla DD, Ward CW (1988) Amino acid sequence homology of coat proteins as a basis for identification and classification of the potyvirus group. *Virus Genes* 96:2703-2710.
- Shukla DD, Jilka J, Tosic M, 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.
- Williams L E, Alexander LJ (1965) Maize dwarf mosaic, a new corn disease. *Phytopathol* 55: 802-804.
- Yang ZN, Mirkov TE (1997) Sequence and relationships of sugarcane mosaic and sorghum mosaic virus strains and development of RT-PCR based RFLPs for strain discrimination. *Phytopathology* 87: 932-939.