ژنتیک نوین
دوره دوازدهم، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۶
صفحه ۴۸۸ - ۴۸۳

ردیابی و بررسی مولکولی دو جدایه جدید ویروس موزائیک ایرانی قیاق (IJMV) در مزارع ذرت استان مازندران

Detection and Molecular Characterization of Two New Isolates of *Iranian johnsongrass mosaic virus* in Corn Fields of Mazandaran Province

زهره مرادی*[۱]، احسان نظیفی[۲]، محسن مهرور[۱]

۱- به‌ترتیب دانش‌آموخته دکتری، دانشیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران
۲- استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

Moradi Z*[1], Nazifi E[2], Mehrvar M[1]

1- PhD, Associate Professor, Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad,Iran
2- Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: z_moradi2020@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۹۵/۷/۵ - تاریخ پذیرش: ۹۶/۵/۱۷)

چکیده

پوتی‌ویروس‌ها متعلق به خانواده Potyviridae یکی از بزرگ‌ترین گروه‌های ویروس‌های گیاهی با بیش‌ترین اهمیت اقتصادی بوده و عامل ۴۰ درصد بیماری‌های ویروسی در گیاهان مختلف می‌باشند. ویروس موزائیک ایرانی قیاق (IJMV) از پوتی‌ویروس‌های مهم غلات می‌باشد و یکی از عوامل مهم موزائیک ذرت در ایران به‌شمار می‌رود. به‌منظور بررسی این ویروس، طی سال‌های ۱۳۹۳-۱۳۹۲ تعداد ۹۰ نمونه دارای علائم ویروسی از مزارع ذرت استان مازندران جمع‌آوری و با آزمون الایزای غیر مستقیم توسط آنتی‌سرم اختصاصی ویروس مذکور مورد بررسی قرار گرفت. RNA ویروس از نمونه‌های الایزا- مثبت استخراج شد، و در آزمون RT-PCR با استفاده از آغازگرهای دژنره مربوط به ناحیه ژنومی cylindrical inclusion (CI) اعضای جنس پوتی‌ویروس، قطعه‌ای به‌طول ۶۸۰ جفت‌باز تکثیر شد. به‌منظور بررسی‌های تکمیلی، محصول PCR دو جدایه از شهرستان بابلسر پس از همسانه‌سازی در حامل پلاسمیدی pTG19-T، توالی‌یابی شدند. نتایج داده‌های ترادف نوکلئوتیدی در BLASTn وجود IJMV را تایید نمود. با مقایسه و تجزیه توالی به‌دست آمده با جدایه‌های موجود در بانک ژن، مشخص شد که دو جدایه تعیین توالی شده بیش‌ترین شباهت را در سطح نوکلئوتیدی (۸۴/۲ درصد) و آمینواسیدی (۹۷/۸ و ۹۷/۳ درصد) با جدایه شیراز (با شماره دسترسی JQ692088) که میزبان آن قیاق می‌باشد، دارند. اختلاف نوکلئوتیدی زیاد جدایه‌های به‌دست آمده از ذرت در مقایسه با جدایه به‌دست آمده از قیاق نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی بالای این ویروس است. نتایج این تحقیق، وقوع و گسترش IJMV در استان مازندران را با روش‌های سرولوژیکی، مولکولی و توالی‌یابی بخشی از ژن CI اثبات می‌کند.

واژه‌های کلیدی

آنالیز فیلوژنتیکی
الایزا
ژن CI
IJMV
RT-PCR

Archive of SID

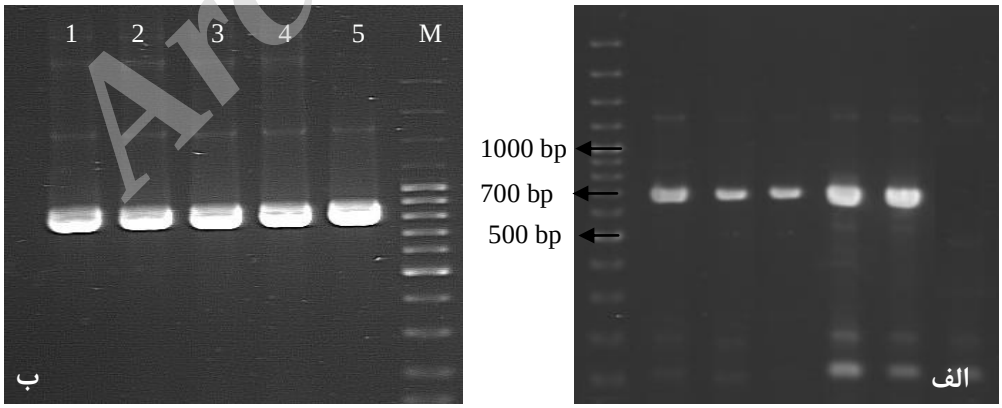
ذرت (*Zea mays*) گیاهی تک لپه از تیره *Gramineae* است که دارای اهمیت اقتصادی و تغذیه‌ای بوده و از نظر سطح کشت بعد از گندم و برنج سومین غله به حساب می‌آید (Mirhadi 2001). شناسایی و مبارزه با عوامل محدود کنندهٔ این محصول، به خصوص پوتی‌ویروس‌ها که از گسترده‌ترین ویروس‌های غلات در دنیا به شمار می‌روند، اهمیت زیادی دارد. خانواده *Potyviridae* از بزرگ‌ترین ویروس‌های گیاهی با ژنوم RNA تک لای مثبت است که حدود ۳۰ درصد از ویروس‌های گیاهی را شامل می‌شود. ۹۰ درصد گونه‌های مربوط به این خانواده متعلق به جنس *Potyvirus* می‌باشد. پوتی‌ویروس‌ها دارای پیکره رشته‌ای شکل، انعطاف پذیر، فاقد غشا و دارای طول ۹۰۰-۶۸۰ هستند. ژنوم یک بخشی از نوع RNA تک‌لای مثبت به طول تقریبا 10 kb است که دارای انتهای polyA در ′۳ و vpg در ′۵ می‌باشد (Adams et al. 2012). ویروس موزائیک ایرانی قیاق (*Iranian mosaic virus*, IJMV *Johnsongrass*) اولین پوتی‌ویروسی می‌باشد که در ایران از روی قیاق گزارش شده‌است (Izadpanah 1983) و علائم موزائیک بر روی قیاق عمدتا مربوط به آلودگی به IJMV است. منشا این ویروس قیاق بوده، و به‌دلیل گسترش وسیع آن در ایران به‌نظر می‌رسد که بومی ایران باشد. IJMV با شته‌های *Rhopalosiphum padi*، *R. maidis*، *Schizaphis graminum* و نیز به‌طور مکانیکی به قیاق، ذرت، سورگوم و ارزن انتقال می‌یابد (Masumi et al. 2011). IJMV اولین بار در سال ۱۳۶۲ از روی قیاق در شیراز گزارش شد (Izadpanah 1983). این ویروس علاوه بر قیاق از ذرت نیز در برخی مناطق کشور با علائم موزائیکی گزارش شده که به‌دلیل واکنش خفیفی که با آنتی سرم SCMV-D از آمریکا نشان داد به عنوان یک استرین از ویروس موزائیک نیشکر تحت عنوان (*Sugarcane mosaic virus*-maize shiraz ,SCMV-MS) نامیده شد. SCMV-MS در آزمون نشت دو طرفه آگار (ADG) با تشکیل مهمیزک از BgSMV (*Bermuda grass southern mosaic virus*) و SCMV-D تفکیک شد ولی با SrMV (*Sorghum mosaic virus*)، MDMV (*Maize dwarf mosaic virus*) و JGMV (*Johnson grass mosaic virus*) هیچ واکنشی نشان نداد (Masumi et al. 2005). SCMV-MS براساس آزمون‌های سرولوژیکی و تجزیه مولکولی براساس ترادف نوکلئوتیدی ناحیه ′۵ ژن CP (Coat protein) به‌عنوان یک ویروس جدید در گروه پوتی‌ویروس به‌نام ویروس موزائیک ایرانی قیاق (IJMV) معرفی شد. بسیاری از محققین برای اهداف تاکسونومیکی منطقه کدشونده CI را مناسب‌تر از CP می‌دانند، به عقیده آن‌ها مقایسات فیلوژنتیکی با ناحیه کد کننده CI بیش‌ترین شباهت را با توالی کامل ژنوم دارد و زمانی که توالی کامل ژنوم در دسترس نباشد مناسب‌ترین گزینه برای اهداف تشخیصی و تاکسونومیکی می‌باشد (Lee et al. 1997; Adams et al. 2005; Ha et al. 2008). IJMV در اکثر مناطق کشور گسترده است (Masumi et al. 2011) ولی تاکنون بررسی جامعی راجع به جدایه‌های آن صورت نگرفته است. به‌همین منظور در تابستان سال‌های ۱۳۹۲-۱۳۹۳ از مزارع ذرت شهرستان‌های ساری، قائمشهر، جویبار و بابلسر در استان مازندران که دارای علائمی از قبیل موزائیک خفیف تا شدید، زردی و کوتولگی بودند تعداد ۹۰ نمونه جمع‌آوری شد. ردیابی اولیه ویروس در نمونه‌ها، با آزمون سرولوژیکی ساندویچ دو طرفه الایزا[1] (DAS-ELISA) به روش Clark and Adams (1997) با استفاده از آنتی سرم چند همسانه‌ای اختصاصی IJMV انجام شد. استخراج آر.ان ای از بافت گیاهی با استفاده از High Pure Viral Nucleic Acid Kit (شرکت Roche، سوئیس) انجام شد. برای انجام واکنش‌های RT-PCR از یک جفت آغازگر دژنره پوتی‌ویروس‌ها (Ha et al. 2008) منطبق بر ژن کد کننده پروتئین CI استفاده شد. سنتز cDNA با استفاده از آنزیم MMLV-Reverse Transcriptase (200u/µL) (شرکت Thermo Scientific، آمریکا)، و واکنش PCR نیز با استفاده از آنزیم Taq DNA polymerase (شرکت Thermo Scientific، آمریکا) مطابق روش و چرخه دمایی توصیف شده توسط Moradi et al. (2016a) انجام شد. محصول PCR مربوط به نمونه‌هایی که در ناحیه مورد انتظار (۶۸۰bp) باند داده بودند، پس از جداسازی از ژل و خالص‌سازی با استفاده از Qiaquick Gel Extraction Kit (شرکت کیاژن، آلمان)، به داخل ناقل پلاسمیدی pTG19-T الحاق شدند. پلاسمیدهای نوترکیب، درون سلول‌های باکتریایی مستعد *Escherichia coli* سویه DH5α

[1] Double-antibody sandwich-enzyme linked immunosorbent assay

Archive of SID
www.SID.ir

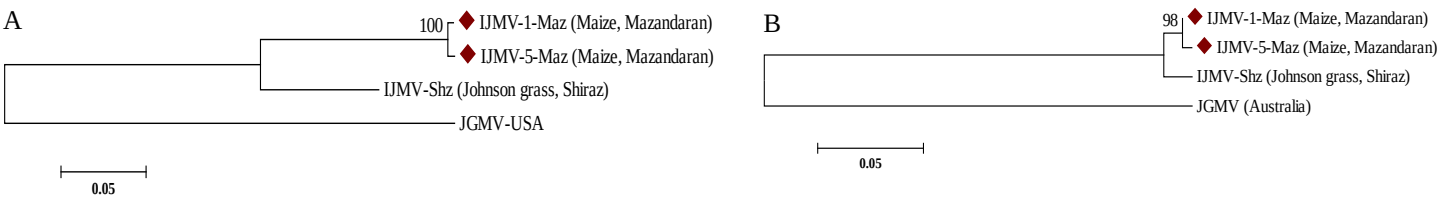
تاریخت شدند. DNA پلاسمیدهای نوترکیب پس از استخراج با Qiagen Plasmid Miniprep Kit (شرکت کیاژن، آلمان) توالی‌یابی شدند (شرکت ماکروژن، کره جنوبی) و تعیین ترادف با استفاده از آغازگرهای عمومی M13 انجام شد. براساس آزمون الایزا از ۹۰ نمونه جمع آوری شده، ۷۲ نمونه (۸۰ درصد) آلوده به IJMV بودند. طبق نتایج این تحقیق تمام مناطق مورد بررسی آلوده به IJMV تشخیص داده شدند و آلودگی مزارع ذرت بابلسر به IJMV نسبت به دیگر مناطق خیلی بیش‌تر بود (۸۱ درصد). عمده‌ترین علائم مشاهده شده موزائیک شدید و خفیف به‌صورت نواری بود (شکل ۱، الف و ب). واکنش RT-PCR که با استفاده از یک جفت آغازگر دژنره از ژن CI انجام شد، منجر به تکثیر قطعه‌ای به طول حدود ٦٨٠ جفت باز گردید، و در نمونه گیاه سالم ذرت هیچ‌گونه باندی مشاهده نشد (شکل ۲–A). در این مرحله به‌منظور بررسی جایگاه فیلوژنی جدایه‌ها، محصول PCR دو جدایه از منطقه بهنمیر واقع در شهرستان بابلسر به نام‌های 1-Maz و 5-Maz پس از همسانه‌سازی و نیز تایید قطعه همسانه‌سازی شده، از دو جهت تعیین توالی شد. برای تایید قطعه خارجی اتصال یافته به داخل پلاسمید، پس از الکتروفورز ژل آگاروز باندی در محدوده ۸۳۰ جفت‌باز (مجموع ٦٨٠ نوکلئوتید مربوط به قطعه مورد نظر و ۱۵۰ نوکلئوتید مربوط به آغازگر M13) مشاهده شد (شکل ۲–B).

شکل ۱– الف و ب: موزائیک شدید به صورت نواری در برگ‌های ذرت آلوده به IJMV



شکل ۲– الف: نتایج آزمون RT-PCR در ژل آگاروز یک درصد مربوط به جدایه‌های IJMV از استان مازندران (لاین‌های ۱– ۵). ٦: کنترل منفی با گیاه سالم ذرت M– مارکر دی.ان.ای ۱۰۰ جفت‌بازی ب: نقوش الکتروفورزی قطعات تکثیر شده در ناحیه ۸۳۰ جفت‌باز در روش Colony PCR به‌منظور تایید قطعه خارجی اتصال یافته به داخل پلاسمید (لاین‌های ۱– ۵).

Archive of SID
www.SID.ir



شکل۳- درخت فیلوژنتیکی حاصل از هم‌ردیف‌سازی چندگانه بر حسب تطابق ترادف ٦٨٠ نوکلئوتید (A) و ٢٢٦ آمینواسید (B) مربوط به ژن CI جدایه‌های IJMV، با استفاده از روش Neighbor-joining نرم‌افزار Mega 6 (Tamura et al. 2013) و بر اساس ١٠٠٠ تکرار (bootstrap). جدایه‌های 1-Maz و 5-Maz از مازندران علامت‌دار شده‌اند. IJMV-Shz: (جدایه شیراز با شماره دسترسی JQ692088). JGMV-Australia (جدایه استرالیا با شماره دسترسی NC_003606) به‌عنوان out group در نظر گرفته شده‌است.

ترادف‌های حاصل، در پایگاه اطلاعاتی NCBI با برنامه BLASTn با ترادف‌های موجود در GenBank مقایسه شدند. پس از ادغام ترادف‌های حاصل از ٢ همسانه، ترادف استنتاجی (Consensus sequence) با استفاده از نرم‌افزار Vector NTI 11 (Invitrogen, USA) به‌دست آمد. نتایج BLASTn نشان داد که قطعات همانندسازی شده در واکنش PCR قسمتی از ژن پروتئین CI ویروس IJMV است. دو جدایه 1-Maz (KU128401)[1] و 5-Maz (KU128402)[2] جدا شده از گیاه ذرت در مازندران بیشترین شباهت را در سطح نوکلئوتیدی (٨٤/٢ درصد) و آمینواسیدی (به‌ترتیب ٩٧/٨ و ٩٧/٣ درصد) با جدایه شیراز (JQ692088) که میزبان آن قیاق می‌باشد، دارند. تشابه توالی نوکلئوتیدی و آمینواسیدی این دو جدایه با یکدیگر به‌ترتیب ٩٩/٣ و ٩٩/٦ درصد می‌باشد. نتایج فیلوژنتیکی ژن CIنشان داد که جدایه‌های IJMV مورد بررسی به‌همراه جدایه شیراز در یک گروه قرار می‌گیرند. آغازگرهای دژنره جهت تشخیص سریع و آسان اکثر اعضای پوتی‌ویروس و نیز توالی‌یابی بخشی از ژنوم جهت طبقه‌بندی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Ha et al. 2008). اغلب این آغازگرها برای توالی‌های انتهای ′٣ ژنوم، مانند مناطق CP و NIb طراحی شده‌اند (Chen et al. 2005; Gibbs et al. 2003; Hsu et al. 2005). با این‌حال، منطقه کدشونده CI با دقت زیادی بیانگر کل ژنوم و مناسب‌ترین گزینه برای اهداف تشخیصی و تاکسونومیکی در زمانی‌که توالی کامل ژنوم در دسترس نیست می‌باشد (Adams et al. 2005; Ha et al. 2008; Lee et al. 1997). پروتئین CI دارای فعالیت RNA هلیکازی و ATPase است و در تکثیر و حرکت سلول به سلول ویروس نقش دارد (Carrington et al. 1998; Sorel et al. 2014). آمینواسیدهای آسپارتیک اسید (D) و گلوتامیک اسید (E) که به‌ترتیب در موقعیت‌های آمینواسیدی ١٧٤ و ١٧٥ این ناحیه از ژنوم وجود داشته و احتمالا در حرکت ویروس نقش دارند (Lee et al. 1997)، در این دو ترادف نیز مشاهده شدند. موتیف متصل شونده به نوکلئوتید GAVGSGKST و موتیف‌های حفاظت شده PTR، DECH، KVSAT، VATNIIENGG که به‌عنوان دامین-های RNA هلیکازی هستند (Kadare and Haenni 1997; Lee et al. 1997) نیز در ترادفهای آمینواسیدی جدایه‌های مورد بررسی در این تحقیق مشاهده شد. این موتیف‌ها با موتیف‌های حفاظت شده سایر پوتی‌ویروس‌های گزارش شده توسط Ha et al. (2008) و Lee et al. (1997) مطابقت دارند. توالی آمینواسیدی بخشی از ژن CI جدایه‌های مازندران از ٢٢٦ آمینواسید تشکیل شده و شباهت بیش‌تری (٩٧/٨ و ٩٧/٣ درصد) با جدایه شیراز نسبت به توالی نوکلئوتیدی دارد که نشان می‌دهد اغلب تفاوت‌های نوکلئوتیدی جدایه‌های مازندران به صورت خاموش می‌باشند. همچنین با توجه به تفاوت نوکلئوتیدی زیاد با جدایه شیراز این طور به‌نظر می‌رسد که فشار انتخاب منفی (negative selection) روی ژن CI جدایه‌های مازندران زیاد است، چراکه باعث تغییرات زیاد آمینواسیدی نشده‌است. ویروس‌های خانواده پوتی‌ویریده و جنس پوتی‌ویروس بزرگ‌ترین گروه ویروس‌های گیاهی و با بیش ترین اهمیت اقتصادی می‌باشند (Adams et al. 2012). در این تحقیق، وجود و گسترش IJMV در استان مازندران با روش‌های سرولوژیکی، مولکولی و توالی‌یابی بخشی از ژن CI اثبات شد.

[1] NCBI شماره دسترسی جدایه در پایگاه اطلاعاتی

[2] NCBI شماره دسترسی جدایه در پایگاه اطلاعاتی

Archive of SID
www.SID.ir

مطابق نتایج این تحقیق، IJMV یکی از مهم‌ترین عوامل ایجادکننده موزائیک در ذرت در مازندران است. دو جدایه توالی‌یابی شده از روی ذرت تفاوت زیادی با جدایه قیاق داشتند. شدت و درصد بیماری‌های ناشی از ویروس‌ها متغیر است و به روابط و همبستگی بین ویروس و میزبان‌ها، ناقلین، شرایط محیطی و موقعیت جغرافیایی مکانی که در آن‌جا بیماری ایجاد می‌نمایند، بستگی دارد. تحقیقات گذشته (Zakeri et al. (2014، Masumi et al.(2002b)، Masumi et al. (2002a) در استان گلستان و نیز یافته‌های حاصل از این تحقیق در استان مازندران حاکی از گسترش و پراکنش سراسری IJMV در شمال کشور دارد. این ویروس در ایران روی قیاق گسترش وسیع داشته (Masumi et al. 2011)، و از نظر اکولوژی، قیاق میزبان اصلی این ویروس و ذرت و سورگوم میزبان‌های زراعی آن می‌باشند. از سوی دیگر اخیرا ویروس موزائیک کوتولگی ذرت (MDMV) و ویروس موزائیک نیشکر (SCMV) نیز از مزارع ذرت و نیشکر استان مازندران گزارش شده‌است (Moradi et al. 2016b, 2016c). با توجه به دوام و ثبات اکولوژیکی گیاهان غیرزراعی میزبان و نیز توسعه کشت غلات، وجود پوتی‌ویروس‌های غلات در مناطق کشت این محصولات خطر بالقوه محسوب می‌شود، چرا که در اثر اینترکشن این ویروس‌ها با یکدیگر امکان هم افزایی و نوترکیبی وجود دارد. رعایت عملیات زراعی به‌خصوص انهدام علف هرز قیاق که به‌طور معمول در مزارع غلات یافت می‌شود و به‌کارگیری ارقام مقاوم مؤثرترین راه کنترل این بیماری ویروسی است که از نظر اقتصادی و زیست محیطی ارزشمند می‌باشد. با توجه به اینکه توصیه ارقام مقاوم ذرت جهت کنترل خسارت این ویروس در هر منطقه، با آگاهی از نوع سویه یا سویه‌های ویروس موجود در آن منطقه امکان پذیر است، پیشنهاد می‌شود مطالعات بیشتری در زمینه شناسایی بیشتر جدایه‌های این ویروس و تنوع ژنتیکی آن‌ها، و نیز تهیه همسانه عفونت‌زا برای بررسی بیماری‌زایی و میزان ویرولانت بودن آن‌ها جهت معرفی ارقام مقاوم با توجه اقلیم گرم و مرطوب شمال کشور صورت گیرد تا از گسترش روزافزون و خسارت‌های شدیدتر این ویروس جلوگیری شود.

منابع

Adams MJ, Antoniw JF, Fauquet CM (2005) Molecular criteria for genus and species discrimination within the family *Potyviridae*. Archives of Virology 150:459-479.

Adams MJ, Zerbini FM, French R, Rabenstein F, Stenger DC, Valkonen JPT (2012) Family *Potyviridae*. In: King AMQ, Adams MJ, Carstens EB, Lefkowitz EJ (eds) Virus taxonomy: ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier, Academic Press, San Diego, CA, USA, pp 1069-1089.

Carrington JC, Jensen PE, Schaad MC (1998) Genetic evidence for an essential role for *potyvirus* CI protein in cell-to-cell movement. Plant Journal 14:393-400.

Clark MF, and Adams AN (1977) Characteristics of the micro plate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. Journal of General Virology 34:475-483.

Gibbs AJ, Mackenzie AM, Gibbs MJ (2003) The 'potyvirid primers' will probably provide phylogenetically informative DNA fragments from all species of *Potyviridae*. Journal of Virological Methods 112:41-44.

Ha C, Coombs S, Revill PA, Harding RM, Vu M, Dale JL (2008) Design and application of two novel degenerate primer pairs for the detection and complete genomic characterization of potyviruses. Archives of Virology 153:25-36.

Hsu YC, Yeh TJ, Chang YC (2005) A new combination of RT-PCR and reverse dot blot hybridization for rapid detection and identification of potyviruses. Journal of Virological Methods 128:54-60.

Izadpanah, K (1983) An annotated list of virus and virus-like diseases of plants in Fars. College of Agriculture, Shiraz University. 188 p. (In Farsi)

Kadare G, Haenni AL (1997) Virus-encoded RNA helicases. Journal of Virology 71:2583–2590.

Lee KC, Mahanti PH, Chung CG, Wong S (1997) Sequence and phylogenetic analysis of the cytoplasmic inclusion protein gene of *Zucchini yellow mosaic potyvirus:* Its role in classification of the *Potyviridae*. Virus Genes 14:41-53.

Masumi M, Izadpanah K, Behjatnia AA (2002a) Taxonomical position of *Iranian Johnsongrass mosaic virus*. In: Proceedings of the First Iranian Congress on Virology, Tehran, Iran, p 136. (In Farsi).

Masumi M, Izadpanah K (2002b) Geographical distribution and serological and physicochemical properties of *Iranian Johnsongrass mosaic virus*. In: Proceedings of the first Iranian virology Congress. Iran, Tehran, 325-326. (In Farsi).

Masumi M, Izadpanah K, Zare A (2005) *Bermuda grass southern mosaic virus*: a distinct potyvirus infecting

Archive of SID
www.SID.ir

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. (In Farsi).

Mirhadi MJ (2001) Maize. Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREO) Publishing, Karaj. 214p. (In Farsi).

Moradi Z, Mehrvar M, Nazifi E (2016a). Identification and Molecular Analysis of *Bean common mosaic virus* (BCMV) and *Bean common mosaic necrosis virus* (BCMNV) in Mazandaran province. Journal of Plant Protection 30:143-150.

Moradi Z, Mehrvar M, Nazifi M (2016b) Molecular identification of important potyviruses infecting crop plants in north of Iran. In: Proceedings of the 19th national and 7th international Congress of biology, Iran, University of Tabriz, p 487.

Moradi Z, Mehrvar M, Nazifi E, Zakiaghl M (2016c): The complete genome sequences of two naturally occurring recombinant isolates of *Sugarcane mosaic virus* from Iran. Virus Genes 52: 270-280.

Shukla DD, Ward CW, Brunt AA (1994) *The Potyviridae*, CAB International, Wallingford, UK, 516p.

Sorel M, Garcia JA, German-Retana S (2014) The *Potyviridae* Cylindrical Inclusion helicase: a key multipartner and multifunctional protein. Molecular Plant-Microbe Interaction 27:215-266.

Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S (2013) MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. Molecular Biology and Evolution 30:2725-2729.

Zakeri A, Mostafavi Neishaburi FS, Nasrollahnejad S (2014) Serological and molecular detection of two mosaic borne viruses in maize fields of Golestan province. Modern Genetics Journal 9:239- 244. (In Farsi).

Archive of SID

www.SID.ir