Identification, Genome Characterization and Phylogenetic Analysis of A Novel *Betanucleorhabdovirus* Infecting Sugar Beet in Iran

j. Abkhoo[1], M. Mehrvar[2*], M. Zakiaghl[2]

1and 2-Department of plant protection, Faculty of agriculture, ferdowsi university of Mashhad, Mashhad, Iran
mehrvar@um.ac.ir
DOI:10.22067/JPP.2025.90010.1205

Introduction

Sugar beet is one of the most important agricultural crops in Iran. Viruses that cause disease in sugar beet include *Beet necrotic yellow vein virus*, *Beet soil-borne mosaic virus*, *Beet soil-borne virus*, *Beet virus Q*, *Beet yellows virus*, *Beet western yellows virus*, *Beet chlorosis virus*, *Beet curly top virus*, *Beet curly top Iran virus* and *Beet black scorch virus*. Members of the genus *Betanucleorhabdovirus* have a monopartite genome and negative-strand RNA. The genome of betanucleorhabdoviruses is 12.9 to 14.4 kb in length and contains six to seven genes. The genus *Betanucleorhabdovirus* has 18 species. Phylogenetic analyzes based on the sequence of the L gene have shown that betanucleorhabdoviruses form a monophyletic group and are placed in a sister group with dichorhaviruses. So far, comprehensive and complete research has not been done regarding the identification and determination of molecular characteristics of betanucleorhabdoviruses infecting sugar beet in Iran. Therefore, this research was carried out in order to identify and determine the molecular characteristics of these viruses to pave the way for other research fields, especially their pathogenesis and management.

Materials and Methods

In order to identify the casual agent of the viral diseases of sugar beet in Iran showing symptoms like mosaics and yellowing of the leaves in samples, were collected from major sugar beet cultivation areas of the country during September and October of 2023. Total RNA was extracted from 60 mg of sugar beet leaf and root tissue using SV Total RNA Extraction Kit (Promega, USA). After determining the quantity and quality of the samples using NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), one sample from the purified total RNA samples that had an optical absorption ratio of 260 nm to 280 nm of approximately 2 was sent to Macrogen Company (Seoul, South Korea) for high-throughput sequencing based on the Illumina platform. High-throughput sequencing reads were imported to the CLC Genomics Workbench (v.12) software, and after editing, assembling the reads based on the software's default, contig fragments were made. Contig fragments were annotated in NCBI database (GenBank) using BLASTX and BLASTN algorithms. Reverse transcription polymerase chain reaction was used to confirm the presence of the virus in the collected samples. Total RNA was used with Random Hexamer primer to convert RNA to cDNA. Polymerase chain reaction was performed using specific primers designed for the N gene of the virus. The polymerase chain reaction included the initial annealing step at 95°C for 5 minutes and then 35 cycles including 95°C for 1 minute, 54°C for 1 minute, and 72°C for 2 minutes. Then the reaction mixture was kept at 72°C for 15 minutes. The PCR products, which had an approximate size of 1208 bp, were sequenced. Phylogenetic analysis was performed based on complete genome sequence with MEGA 11, using Maximum likelihood method and General Time Reversible model (GTR+G+I) with 1000 bootstrap replications.

Results and Discussion

After receiving the high-throughput sequencing results from South Korea's Macrogen Company and their preliminary analysis, the complete genome of a new *Betanucleorhabdovirus* was identified in sugar beet. The identified isolates showed 86.13% nucleotide identity, and isolate IR1 (accession number OR227650) shared the highest nucleotide identity among the viruses in the GenBank with tomato betanucleorhabdovirus 2 isolate SKO20ST1 (70.3%) and had a nucleotide identity level below the demarcation criteria for delimiting ICTV species in the genus *Betanucleorhabdovirus* (nucleotide identity of 75% for the whole genome) Therefore, a new species tentatively called beet betanucleorhbdovirus 1 (beet leaf curl betanucleorhabdovirus) was identified in the genus *Betanucleorhabdovirus*. The full-length genome of beet betanucleorhabdovirus 1 had six open reading frames (3'-N-P-P3-M-G-L-5'). The beet betanucleorhabdovirus 1 specific primers amplified a fragment with the expected size of 1208 bp from the sugar beet sample followed by sequencing of the PCR product. The result confirmed the infection of the original beet samples with beet betanucleorhabdovirus 1. The phylogenetic analysis showed that beet betanucleorhabdovirus 1 is most closely related to members of the genus *Betanucleorhabdovirus*. Sugar beet plants infected with beet betanucleorhabdovirus 1 showed curling and mild yellowing of leaf, although these symptoms could be caused by infection of the host plant with other infecting viruses.

Conclusion

This research identified a new virus with a negative single-stranded RNA genome, which belongs to the genus *Betanucleorhabdovirus* as a new species.

Keywords: *Betanucleorhabdovirus*, High-throughput sequencing, phylogeny, Iran

نسخه پیش انتشار

شناسایی، بررسی خصوصیات ژنومی و واکاوی تبارزایی بتانوکلئورابدوویروس جدید آلوده کننده چغندرقند در ایران

جواد آبخو[1]، محسن مهرور [2*]و محمد زکی عقل[2]

تاریخ دریافت:۱۴۰۳/۰۷/۰۹
تاریخ بازنگری:۱۴۰۳/۱۲/۱۸
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۱۹

۱- دانشجوی دکترا، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۲- دانشیار، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
mehrvar@um.ac.ir
DOI:10.22067/JPP.2025.90010.1205

چکیده

چغندرقند یکی از محصولات مهم کشاورزی در ایران است که در استان های مختلف کشت می شود و ویروس‌های مختلف سبب بیماری در آن می‌شوند. اعضای جنس *Betanucleorhabdovirus* دارای ژنوم تک بخشی و ار ان ا تک رشته منفی بوده، ژنوم آنها دارای شش تا هفت قاب خوانش باز (ORF) است. جهت شناسایی عامل یا عوامل ایجاد بیماری ویروسی در چغندرقند که دارای علائمی مانند موزائیکی شدن و زردی برگها بودند، نمونه‌برداری از برگها و ریشه های چغندرقند دارای علائم بیماری ویروسی از مناطق عمده کشت چغندرقند در کشور طی شهریور و مهرماه سال ۱۴۰۲ انجام و آر ان ا کل جهت توالی‌یابی توان بالا یا ژرف (High-throughput sequencing) برپایه پلتفرم ایلومینا (illumina) انجام شد. برای تایید حضور ویروس در نمونه‌های جمع‌آوری شده از واکنش زنجیره‌ای پلی مراز معکوس استفاده شد. ترسیم درخت تبارزایی براساس ترادف کامل نوکلئوتیدی ژنوم آن با استفاده از نرم افزار MEGA11 به روش Maximum likelihood و مدل General Time Reversible (GTR+G+I) انجام شد. ترادف کامل نوکلئوتیدی ژنوم یک بتانوکلئورابدوویروس گیاهی جدید در چغندرقند شناسایی شد. جدایه های شناسایی شده یکسانی نوکلئوتیدی به میزان ۸۶/۱۳ درصد را نشان دادند و جدایه IR1 (رس شماره OR227650) بالاترین درصد یکسانی نوکلئوتیدی را در بین ویروس‌های موجود در بانک ژنی (GenBank) با بتانوکلئورابدوویروس شمارهٔ دو گوجه فرنگی (tomato betanucleorhabdovirus 2) جدایهٔ SKO20ST1 به میزان ۷۰/۳ درصد داشت و دارای میزان یکسانی نوکلئوتیدی زیر معیار مرزبندی گونه‌های ICTV در جنس *Betanucleorhabdovirus* (تشابه نوکلئوتیدی ۷۵ درصد برای کل ژنوم) بود. بنابراین به عنوان یک گونه جدید به نام بتانوکلئورابدوویروس شمارهٔ یک چغندرقند (بتانوکلئورابدوویروس پیچیدگی برگ چغندرقند) (beet betanucleorhabdovirus 1 (beet leaf curl betanucleorhabdovirus)) در جنس *Betanucleorhabdovirus* نامگذاری شد. ژنوم بتانوکلئورابدوویروس شمارهٔ یک چغندرقند دارای شش قاب خوانش باز بود ('3'-N-P-P3-M-G-L-5'). واکاوی تبارزایی نشان داد که بتانوکلئورابدوویروس شمارهٔ یک چغندرقند بیشترین ارتباط را با اعضای جنس *Betanucleorhabdovirus* دارد. این تحقیق برای اولین بار بتانوکلئورابدوویروس جدیدی را از روی چغندرقند بعنوان یک گونه جدید از جنس *Betanucleorhabdovirus* معرفی می‌کند.

واژه های کلیدی: بتانوکلئورابدوویروس، توالی‌یابی توان بالا، تبارزایی، ایران

مقدمه

چغندرقند با سطح برداشت ۱۳۲،۱۸۵ هکتار یکی از محصولات مهم کشاورزی در ایران است که در استان‌های مختلف کشت می‌شود (Agricultural Statistics, 2023). ویروس‌هایی که سبب بیماری در چغندرقند می‌شوند شامل ویروس رگبرگ زرد نکروتیک چغندرقند (*Beet necrotic yellow vein virus*)، ویروس موزائیک خاک زاد چغندرقند (*Beet soil-borne mosaic virus*)، ویروس Q چغندرقند (*Beet virus Q*)، ویروس زردی غربی چغندرقند (*Beet western yellows virus*)، ویروس پیچیدگی بوته چغندرقند (*Beet curly top virus*) (Harvesom *et al*., 2009)، ویروس ایرانی پیچیدگی بوته چغندرقند (*Beet curly top Iran virus*) (Bolok-Yazdi *et al*., 2008) و ویروس سوختگی سیاه برگ چغندرقند (*Beet black scorch virus*) (Cui, 1988) است.

اعضای جنس *Betanucleorhabdovirus* دارای ژنوم از نوع ار ان ا خطی تک بخشی با سنس منفی به طول ۱۲/۹ تا ۱۴/۴ کیلوباز هستند که حاوی شش تا هفت قاب خوانش باز است (https://ictv.global/report/chapter/rhabdoviridae/rhabdoviridae/betanucleorhabdovirus). ژنوم آنها در ویریون های باسیلی شکل با قطر ۴۵ تا ۱۰۰ نانومتر و طول ۱۳۰ تا ۳۵۰ نانومتر محصور شده است (Jackson *et al*., 2005). جنس *Betanucleorhabdovirus* دارای 18 گونه است (https://ictv.global/report/chapter/rhabdoviridae/rhabdoviridae/betanucleorhabdovirus). سایر بتانوکلئورابدوویروس‌ها که آلوده کننده گیاهان بوده‌اند و شرح داده شده اند شامل رابدوویروس شمارهٔ یک پاریس یونانننسیس (Paris yunnanensis rhabdovirus 1) (Hu *et al*., 2023) و بتانوکلئورابدوویروس شمارهٔ یک تا پنج آقطی سیاه (Sambucus betanucleorhabdovirus 1-5) (Šafářová *et al*., 2024) است. واکاوی‌های تبارزایی براساس ژن L نشان داده است که بتانوکلئورابدوویروس‌ها یک گروه مونوفیلتیک را تشکیل می‌دهند و با دی‌کوراویروس‌ها (Dichorhaviruses) در یک گروه خواهری قرار می گیرند (Li *et al*., 2015).

تعداد زیادی از رابدویروس‌های گیاهی با استفاده از روش توالی‌یابی توان بالا (High-throughput sequencing) شناسایی شده اند (Bejerman *et al*., 2020; Bejerman *et al*., 2021; Šafářová *et al*., 2024). تاکنون تحقیق جامع و کاملی در خصوص شناسایی و تعیین خصوصیات مولکولی بتانوکلئورابدوویروس‌های آلوده کننده چغندرقند در ایران انجام نشده است. لذا این طرح به منظور شناسایی و تعیین خصوصیات مولکولی این ویروس‌ها به اجرا درآمد تا راه برای سایر زمینه‌های تحقیقاتی بخصوص نحوه بیماریزایی و مدیریت آنها هموار گردد.

مواد و روش

جمع‌آوری نمونه‌های آلوده

نمونه‌برداری از برگ‌ها و ریشه‌های بوته‌های چغندرقند دارای علائم بیماری ویروسی از مناطق عمده کشت چغندرقند درکشور شامل استان‌های خراسان شمالی (شیروان، فاروج)، خراسان رضوی (مشهد، فریمان، سفیدسنگ، تربت‌جام، تایباد، تربت‌حیدریه، جوین)، خراسان جنوبی (خضری دشت بیاض، نیمبلوک)، کرمانشاه (کرمانشاه)، لرستان (ازنا) و همدان (نهاوند) طی ماه‌های شهریور و مهر ۱۴۰۲ انجام شد.

توالی‌یابی توان بالا

استخراج آر ان ا کل از ۶۰ میلی‌گرم بافت برگ‌ها و ریشه‌های بوته‌های چغندرقند با استفاده از SV Total RNA Extraction Kit (Promega, USA) انجام شد. پس از تعیین کمیت و کیفیت نمونه‌ها بوسیله دستگاه نانودراپ ۲۰۰۰ (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)، از میان نمونه‌های آر ان ا کل خالص که دارای نسبت جذب نوری ۲۶۰ نانومتر به ۲۸۰ نانومتر تقریباً ۲ بودند (Barbas *et al*., 2007)، یک نمونه جهت توالی‌یابی توان بالا برپایه پلتفرم ایلومینا (illumina) به شرکت ماکروژن (کره جنوبی) ارسال شد (Turang *et al*., 2024).

واکاوی داده‌های توالی‌یابی توان بالا

ابتدا کنترل کیفیت خوانش‌های توالی‌یابی توان بالا با استفاده از نرم افزار CLC Genomics Workbench (v.12) بررسی شد. پس از ویرایش خوانش‌ها، مونتاژ آنها براساس پیش فرض نرم افزار انجام و قطعات کانتیگ ساخته شد. قطعات کانتیگ در پایگاه داده NCBI (GenBank) با استفاده از الگوریتم‌های BLASTX و BLASTN حاشیه نویسی شدند (Altschul *et al*., 1997).

تایید نتیجه توالی‌یابی توان بالا بوسیله واکنش زنجیره‌ای پلیمراز معکوس (RT-PCR)

برای تایید حضور ویروس در نمونه‌های جمع آوری شده از واکنش زنجیره‌ای پلی مراز معکوس استفاده شد. از ار ان ا کل مورد استفاده جهت انجام توالی‌یابی با توان بالا بهمراه آغازگر راندوم هگزامر (Random Hexamer) جهت تبدیل ار ان ای به cDNA استفاده شد. واکنش زنجیره‌ای پلی مراز با استفاده از آغازگرهای اختصاصی ژن N (پروتئین نوکلئوکپسید) این ویروس که از روی ترادف دریافت شده از شرکت ماکروژن (کره جنوبی) (رس شماره OR227650) طراحی شده بود (Forward: 5'- ACGAGCTCAAAGCCATCCG -3') (Reverse: 5'- TGCAGCATACAGCTTGTCCA -3') انجام شد. واکنش زنجیره‌ای پلی مراز شامل مرحله واسرشت سازی اولیه در ۹۵ درجه سلسیوس به مدت پنج دقیقه و سپس ۳۵ چرخه شامل دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه، دمای ۵۴ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه و دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۲ دقیقه بود. سپس مخلوط واکنش در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه نگهداری شد. محصولات واکنش که دارای اندازه تقریبی ۱۲۰۸ جفت باز بودند برای تعیین توالی به شرکت فزاپژوه (ایران) ارسال شد.

واکاوی تبارزایی

ترسیم درخت تبارزایی براساس ترادف کامل نوکلئوتیدی ژنوم آن با استفاده از نرم افزار MEGA11 (Tamura *et al*., 2021) به روش Maximum likelihood و مدل General Time Reversible (GTR+G+I) (Nei & Kumar, 2000) و با ۱۰۰۰ تکرار انجام شد.

نتایج

پس از دریافت نتایج توالی‌یابی توان بالا از شرکت ماکروژن (کره جنوبی) و واکاوی مقدماتی آنها، ژنوم ویروس رگبرگ زرد نکروتیک چغندرقند، ویروس خاک‌زاد چغندرقند، ویروس Q چغندرقند، ویروس سوختگی سیاه برگ چغندرقند، ویروس پیچیدگی بوته چغندرقند و ژنوم یک بتانوکلئورابدوویروس جدید در چغندرقند شناسایی شد. جدایه های شناسایی شده از ژنوم

بتانوکلئورابدوویروس، یکسانی نوکلئوتیدی به میزان ۸۶/۱۳ درصد را نشان دادند و جدایه IR1 (رس شماره OR227650) بالاترین درصد یکسانی نوکلئوتیدی را در بین ویروس‌های موجود در GenBank با بتانوکلئورابدوویروس شمارهٔ دو گوجه فرنگی جدایهٔ SKO20ST1 به میزان ۷۰/۳ درصد داشت (جدول ۱) و دارای میزان یکسانی نوکلئوتیدی زیر معیار مرزبندی گونه‌های ICTV در جنس *Betanucleorhabdovirus* (تشابه نوکلئوتیدی ۷۵ درصد برای کل ژنوم) (https://ictv.global/report/chapter/rhabdoviridae/rhabdoviridae/betanucleorhabdovirus) بود. بنابراین به عنوان یک گونه جدید به نام بتانوکلئورابدوویروس شمارهٔ یک چغندرقند (بتانوکلئورابدوویروس پیچیدگی برگ چغندرقند (beet leaf curl betanucleorhabdovirus)) (beet betanucleorhbdovirus 1) در جنس *Betanucleorhabdovirus* نامگذاری شد (شکل ۱).

جدول ۱. درصد یکسانی نوکلئوتیدی کل ژنوم بتانوکلئورابدوویروس شمارهٔ یک چغندرقند جدایه IR1 (beet betanucleorhbdovirus 1 isolate IR1) (رس شماره OR227650) با سایر ترادف‌های موجود در GenBank

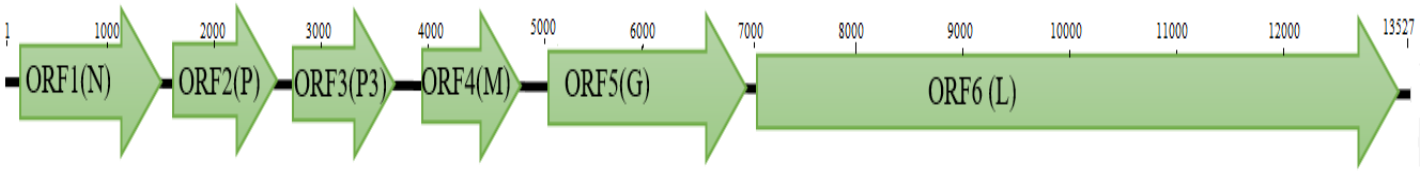
Table 1. Percentage of nucleotide identity of the complete genome of beet betanucleorhbdovirus 1 isolate IR1 (accession no. OR227650) with other sequences available in GenBank.

رس شماره Accession Number	درصد یکسانی نوکلئوتیدی Percent Identity	درصد همپوشانی Query Cover	کل امتیاز همردیفی دوگانه Total Score	حداکثر امتیاز همردیفی دوگانه Max Score	نام علمی Scientific Name
OQ784673	۸۶/۱۳	۱۰۰	۱۶۱۶۱	۱۴۰۷۴	beet leaf curl betanucleorhabdovirus isolate Fariman
OL472114	۷۰/۳	۸۴	۴۶۸۴	۲۱۹۰	tomato betanucleorhabdovirus 2 isolate SKO20ST1
OL472129	۷۰/۲۷	۸۴	۴۶۳۰	۲۱۷۹	tomato betanucleorhabdovirus 2 isolate STR20AT
OP441765	۷۰/۳	۷۹	۴۸۴۵	۲۱۷۸	tomato betanucleorhabdovirus 2 isolate 09-50
OP441766	۷۰/۲۸	۷۹	۴۸۴۰	۲۱۷۴	tomato betanucleorhabdovirus 2 isolate 10-52

شکل ۱. بوته چغندرقند آلوده به بتانوکلئورابدوویروس شمارهٔ یک چغندرقند (beet betanucleorhbdovirus 1) با علائم پیچیدگی و زردی خفیف برگ جمع آوری شده از منطقهٔ فریمان، ایران

Figure 1- Sugar beet plant infected with beet betanucleorhbdovirus 1 showing curling and mild yellowing of leaf collected from Fariman, Iran.

ژنوم بتانوکلئورابدوویروس شمارهٔ یک چغندرقند دارای شش قاب خوانش باز بود (3'-N-P-P3-M-G-L-5') (شکل ۲).

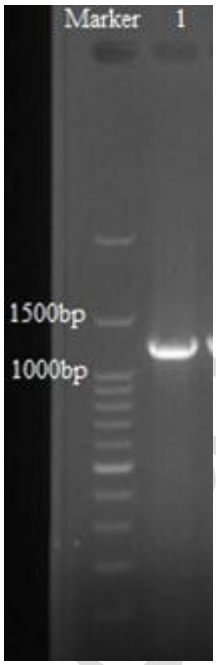


شکل ۲. تصویر شماتیک از ژنوم بتانوکلئورابدوویروس شمارهٔ یک چغندرقند جدایه IR1 (beet betanucleorhbdovirus isolate 1 IR1) (رس شماره OR227650). N (ژن پروتئین نوکلئوکپسید)، P (ژن فسفوپروتئین)، P3 (ژن پروتئین حرکتی)، M (ژن پروتئین ماتریکس)، G (ژن گلیکوپروتئین)، L (ژن پروتئین بزرگ).

Figure 2- Schematic illustration of the beet betanucleorhbdovirus isolate 1 IR1 genome (accession no. OR227650). N (nucleocapsid protein gene), P (phosphoprotein gene), P3 (movement protein gene) M (matrix protein gene), G (glycoprotein gene), L (large protein gene).

تایید آلودگی چغندرقند به بتانوکلئورابدوویروس شمارهٔ یک چغندرقند بوسیله واکنش زنجیره‌ای پلیمراز معکوس

آغازگرهای اختصاصی بتانوکلئورابدوویروس شمارهٔ یک چغندرقند قطعه‌ای را با اندازه مورد انتظار ۱۲۰۸ جفت باز از نمونه چغندرقند تکثیر کردند (شکل ۲) که پس از توالی‌یابی، آلودگی چغندرقند به بتانوکلئورابدوویروس شمارهٔ یک چغندرقند تایید شد.

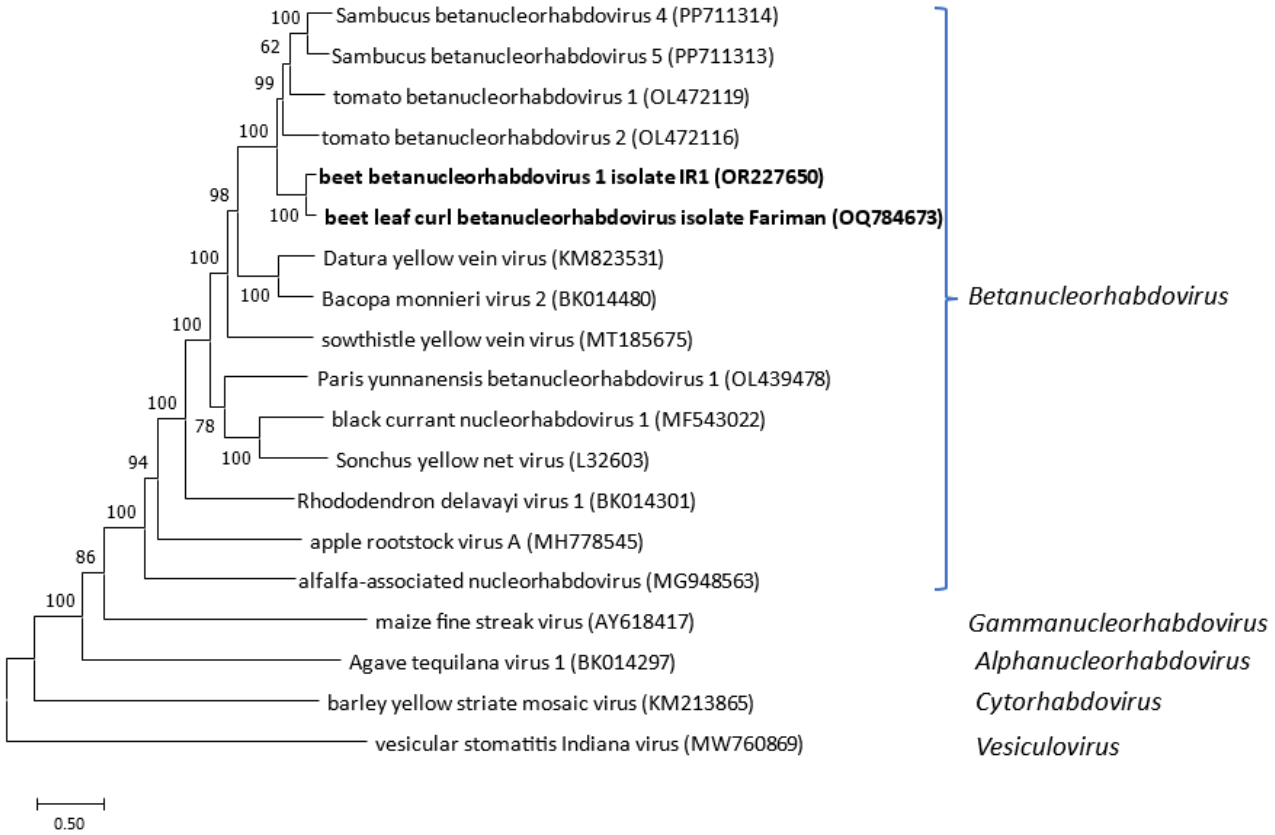


شکل ۳- نتایج واکنش زنجیره‌ای پلیمراز معکوس روی ژل آگارز۱%. چاهک ۱: نمونه آلوده به بتانوکلئورابدوویروس شمارهٔ یک چغندرقند (beet betanucleorhbdovirus 1) از گیاهان چغندرقند، M: نشانگر (DM2300) 100 bp+3K.

Figure 3-Reverse polymerase chain reaction results on 1% agarose gel. Lane 1: sample infected with beet betanucleorhabdovirus 1 from sugar beet plants, M: marker 100 bp+3K (DM2300).

واکاوی تبارزایی

درخت تبارزایی ترسیم شده براساس ترادف کامل نوکلئوتیدی ژنوم نشان داد که بتانوکلئورابدوویروس شمارهٔ یک چغندرقند بیشترین ارتباط را با اعضای جنس بتانوکلئورابدوویروس دارد (شکل ۴).



شکل٤- درخت تبارزایی برپایه ترادف نوکلئوتیدی کل ژنوم بتانوکلئورابدوویروس شمارهٔ یک چغندرقند (بتانوکلئورابدوویروس پیچیدگی برگ چغندرقند (beet leaf curl) (beet betanucleorhabdovirus 1 (betanucleorhabdovirus)) و نمایندگانی از سایر جنس‌های خانوادهٔ *Rhabdoviridae* با استفاده از نرم افزار MEGA 11 به روش Maximum likelihood و مدل General Time Reversible (GTR+G+I) و آزمون اعتبارسنجی با ۱۰۰۰ تکرار. ویروس ایندیانا وزیکولار استوماتیتیس (vesicular stomatitis Indiana virus) به عنوان عضو خارج از گروه درنظر گرفته شده است.

Figure 4- Maximum likelihood tree of beet betanucleorhabdovirus 1 (beet leaf curl betanucleorhabdovirus) and other *Rhabdoviridae* constructed in MEGA11 using the GTR+G+I model, based on complete genome sequences, with 500× bootstrap replications. Vesicular stomatitis Indiana virus is considered as an outgroup.

بحث

در این تحقیق برای اولین بار بتانوکلئورابدوویروس جدیدی بنام بتانوکلئورابدوویروس شمارهٔ یک چغندرقند روی چغندرقند جداسازی شد. ژنوم این ویروس دارای شش قاب خوانش باز بوده که براساس ترادف نوکلئوتیدی کل ژنوم با بتانوکلئورابدوویروس‌ها گروه بندی شده، و به عنوان گونه جدیدی از جنس *Betanucleorhabdovirus* معرفی می‌گردد.

تکنیک توالی یابی توان بالا توانایی تشخیص ویروس‌های گیاهی شناخته شده و همچنین ناشناخته را داشته و می تواند کل ژنوم ویروس های RNA دار را توالی‌یابی کند (Kreuze *et al*., 2009; Adams *et al*., 2009; Jones *et al*., 2017; Al Rwahnih *et al*., 2015). در مطالعه جدیدی برروی چغندرقند در ایالات متحده آمریکا، *Alphanecrovirus* جدید آلوده کننده چغندرقند و ویروس های ماهواره ای همراه آن با استفاده از این روش شناسایی شد (Weiland *et al*., 2020). بلیت و همکاران (Belete *et al*., 2022) توالی کامل ژنوم رابدویروسی جدید به نام ویروس شماره یک کنیدیم (*Cnidium virus 1*) از گیاه *Cnidium officinale* را در کره جنوبی شناسایی کردند که ژنوم آن ار ان ا تک رشته ای با سنس منفی و بطول ۱۴ کیلوباز بود. سازمان ژنومی این ویروس شباهت زیادی به رابدویروس های گیاهی داشته، شامل شش قاب خوانش باز (N-P-P3-M-G-L) بود که به عنوان یک عضو جدید از جنس *Betanucleorhabdovirus* در خانواده *Rhabdoviridae* طبقه بندی گردید. هو و همکاران (Hu *et al*., 2023) یک بتانوکلئورابدوویروس جدید آلوده کننده گیاه *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* به نام رابدوویروس شمارهٔ یک پاریس یوناننسیس را در چین شناسایی کردند که ژنوم آن متشکل از ۱۳۵۰۹ نوکلئوتید بوده، دارای سازمان ژنومی معمولی رابدویروس‌ها (حاوی شش قاب خوانش باز با مناطق بین ژنی حفاظت شده) است. صفروا و همکاران (Šafářová *et al*., 2024) پنج بتانوکلئورابدوویروس جدید به نام بتانوکلئورابدوویروس یک تا پنج آقطی سیاه را از روی گیاه آقطی سیاه گزارش نمودند. این پنج بتانوکلئورابدوویروس جدید ساختار ژنومی (3'-N-P-P3-M-G-L-5') معمولی رابدویروس‌های گیاهی را نشان دادند.

گیاهان آلوده به بتانوکلئورابدوویروس یک تا پنج آقطی سیاه فاقد علائم بودند و یا علائم سبزردی خفیف برگ را نشان می دادند (Šafářová *et al*., 2024). گیاهان آلوده به رابدوویروس شمارهٔ یک پاریس یوناننسیس در مراحل اولیه آلودگی رگبرگ روشنی و به دنبال آن زردی و نکروز برگ را نشان می‌دادند (Hu *et al*., 2023). بوته‌های چغندرقند آلوده به بتانوکلئورابدوویروس شمارهٔ یک چغندرقند علائم پیچیدگی و زردی خفیف برگ را نشان دادند. با این حال، این علائم می تواند ناشی از آلودگی گیاه میزبان به سایر ویروس‌های آلوده کننده نیز باشد.

در این تحقیق برای اولین بار در دنیا یک بتانوکلئورابدوویروس جدید از روی چغندرقند شناسایی و گزارش گردید که بعنوان یک گونه جدید در جنس *Betanucleorhabdovirus* معرفی می‌گردد. تحقیقات آینده بر روی ویژگی‌های بیولوژیکی (ناقل و دامنه میزبانی)، میزان بیماریزایی و نحوه مدیریت آن توصیه می شود.

References

Adams, I. P., Glover, R. H., Monger, W. A., Mumford, R., Jackeviciene, E., Navalinskiene, M., Samuitiene, M., & Boonham, N. (2009). Next-generation sequencing and metagenomic analysis: a universal diagnostic tool in plant virology. *Molecular Plant Pathology, 10*(4), 537-45. https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2009.00545.x

Agricultural Statistics. (2023). Agricultural Statistics Crop Year 2021-2022, Volume one: Crops Products, Ministry of Agriculture Jihad, Deputy of Planning and Economics, ICT Center. (In Persian).

Altschul, S. F., Madden, T. L., Schaffer, A.A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W., & Lipman, D. J. (1997). Gapped BLAST and PSI-BLAST: A new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research, 25,* 3389–3402. https://doi.org/10.1093/nar/25.17.3389.

Al Rwahnih, M., Daubert, S., Golino, D., Islas, C., & Rowhani, A. (2015). Comparison of Next-Generation Sequencing Versus Biological Indexing for the Optimal Detection of Viral Pathogens in Grapevine. *Phytopathology*, *105*(6):758-63. https://doi.org/10.1094/PHYTO-06-14-0165-R

Baek, D., Lim, S., Ju, H. J., Kim, H. R., Lee, S. H., & Moon, J. S. (2019). The complete genome sequence of apple rootstock virus A, a novel nucleorhabdovirus identified in apple rootstocks. *Archives of Virology*, *164*(10), 2641-2644. https://doi.org/10.1007/s00705-019-04348-0.

Barbas |||, C. F., Burton, D. R., Scott, J. K., & Silverman, G. J. (2007). Quantitation of DNA and RNA. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2007:pdb.ip47. https://cshprotocols.cshlp.org/content/2007/11/pdb.ip47.long.

Belete, M. T., Igori, D., Kim, S. E., Lee, S. H., & Moon, J. S. (2022). Complete genome sequence of cnidium virus 1, a novel betanucleorhabdovirus infecting Cnidium officinale. *Archives of Virology*, *167*(3): 973-977. https://doi.org/10.1007/s00705-021-05348-9.

Bejerman, N., Debat, H., & Dietzgen, R. G. (2020). The Plant Negative-Sense RNA Virosphere: Virus Discovery Through New Eyes. *Frontiers in microbiology*, 11:588427. https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.588427.

Bejerman, N., Dietzgen, R. G., & Debat, H. (2021). Illuminating the Plant Rhabdovirus Landscape through Metatranscriptomics Data. *Viruses*, *13*(7), 1304. https://doi.org/10.3390/v13071304.

Cui, X. (1988). An icosahedral virus found in sugar beet. *Journal Xinjiang Shihezi Agriculture College*, *10*(1):73–78.

Bolok-Yazdi, H.R., Heydarnejad, J. & Massumi, H. (2008). Genome characterization and genetic diversity of beet curly top Iran virus: a geminivirus with a novel nonanucleotide. *Virus Genes*, *36*, 539–545. https://doi.org/10.1007/s11262-008-0224-2

Farahmand, A., Shams-bakhsh, M., & Hosseinzadeh, M. R. (2016). Detection and Phylogenetic Analysis of Iranian Beet Mosaic Virus Isolates Based on the Viral Coat Protein Gene. *Agricultural Biotechnology*, 7(2), 85-94. doi: 10.22084/ab.2016.2067. (In Persian with English abstract).

Gaafar, Y. Z. A., Richert-Poggeler, K. R., Maass, C., Vetten, H. J., & Ziebell, H. (2019). Characterisation of a novel nucleorhabdovirus infecting alfalfa (*Medicago sativa*). *Virology Journal*, *16*, 55. https://doi.org/10.1186/s12985-019-1147-3.

Harvesom, R. M., Hanson, L. E., Hein G. L. (2009). Compendium of Beet Diseases and Pests. The American Phyto- pathological Society. St. Paul, Minnesota, U.S.A.
https://ictv.global/report/chapter/rhabdoviridae/rhabdoviridae/betanucleorhabdovirus.

Hu, J., Miao, T., Que, K., Rahman, M. S., Zhang, L., Dong, X., Ji, P., & Dong, J. (2023). Identification, molecular characterization and phylogenetic analysis of a novel nucleorhabdovirus infecting *Paris polyphylla* var. *yunnanensis*. *Scientific Reports*, *13*(1), 10040. https://doi.org/10.1038/s41598-023-37022-2.

Jackson, A. O., Dietzgen, R. G., Goodin, M. M., Bragg, J. N. & Deng, M. (2005). Biology of plant rhabdoviruses. *Annual Review of Phytopathology*, *43*, 623–660. https:// doi. org/ 10. 1146/ annur ev. phyto. 43. 011205. 141136.

Jalali, S., Okhovvat, M., Mossahebi, G., & Arjmand, M. N. (2001). Isolation and identification of viruses causing sugar beet Mosaic symptoms in Karaj. *Journal of Sugar Beet*, 17(1), 44-56. doi: 10.22092/jsb.2001.11755. (In Persian with English abstract)

Jones, S., Baizan-Edge, A., MacFarlane, S., & Torrance, L. (2017). Viral Diagnostics in Plants Using Next Generation Sequencing: Computational Analysis in Practice. *Frontiers in Plant Science, . 8*, 1770. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01770

Kreuze, J. F., Perez, A., Untiveros, M., Quispe, D., Fuentes, S., Barker, I., & Simon, R. (2009). Complete viral genome sequence and discovery of novel viruses by deep sequencing of small RNAs: a generic method for diagnosis, discovery and sequencing of viruses. *Virology*, *388*(1), 1-7. https://doi.org/10.1016/j.virol.2009.03.024.

Li, C. X., Shi, M., Tian, J. H., Lin, X. D., Kang, Y. J., Chen, L. J., Qin, X. C., Xu, J., Holmes, E. C., & Zhang, Y. Z. (2015). Unprecedented genomic diversity of RNA viruses in arthropods reveals the ancestry of negative-sense RNA viruses. *Elife*, 29, 4:e05378. https://doi.org/10.7554/eLife.05378.

Nei, M., & Kumar, S. (2000). *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, New York.

Šafářová, D., Candresse, T., Veselská, J., & Navrátil, M. (2024). Novel Betanucleorhabdoviruses Infecting Elderberry (*Sambucus nigra* L.): Genome Characterization and Genetic Variability. *Pathogens*, *13*(445), 1-17. https://doi.org/10.3390/pathogens13060445.

Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution*, *38*(7), 3022-3027. https://doi.org/10.1093/molbev/msab120.

Turang, S., Mehrvar, M., & Zakiaghl, M. (2024). Identification, molecular and phylogenetic characterization of two isolates of vinca mosaic virus based on p1 and cp genes. Journal of Iranian Plant Protection Research, 38(3), 209-226. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jpp.2024.82191.1144

Weiland, J. J., Sharma, Poudel, R., Flobinus, A., Cook, D. E., Secor, G. A., & Bolton, M. D. (2020). RNAseq Analysis of Rhizomania-Infected Sugar Beet Provides the First Genome Sequence of Beet Necrotic Yellow Vein Virus from the USA and Identifies a Novel Alphanecrovirus and Putative Satellite Viruses. *Viruses*, *12*(6), 626. https://doi.org/10.3390/v12060626.

نسخه پیش انتشار