نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۰، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۵، ص. ۶۴۵-۶۳۹

Journal of Plant Protection
Vol. 30, No. 4, Winter 2017, P. 639-645

شناسایی و بررسی مولکولی ویروس موزائیک نیشکر (*Sugarcane mosaic virus*; SCMV) در استان مازندران

زهره مرادی[۱]- محسن مهرور[۲*]- احسان نظیفی[۳]- محمد زکی عقل[۴]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۸/۱۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۴/۲۸

چکیده

ویروس موزائیک نیشکر (*Sugarcane mosaic virus*; SCMV) یکی از بیمارگرهای بسیار مهم و خسارت‌زا در مناطق کشت ذرت و نیشکر در دنیا است. به منظور ردیابی و شناسایی این ویروس، در سال‌های ۱۳۹۳-۱۳۹۲ تعداد ۴۵ نمونه مشکوک به آلودگی از مزارع نیشکر و ذرت در استان مازندران جمع‌آوری شد. در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با نسخه‌برداری معکوس (Reverse transcription-PCR, RT-PCR) با استفاده از یک جفت آغازگر اختصاصی مربوط به ژن پروتئین پوششی، قطعه‌ای به طول۹۰۰ جفت باز در ۳۵ نمونه تکثیر گردید. محصول PCR مربوط به چهار جدایه پس از همسانه‌سازی در ناقل pTG19-T، توالی‌یابی شده و با سایر توالی‌های موجود در بانک ژن مقایسه گردید. در آنالیز فیلوژنتیکی، توالی نوکلئوتیدی ۳۶ جدایه ویروس موزائیک نیشکر در دو گروه (I و II) و چهار زیر گروه قرار گرفتند و جدایه‌های مازندران نیز در کنار جدایه‌های خوزستان و مصر در زیرگروه IA قرار گرفتند. آنالیز فیلوژنتیکی جدایه‌های تعیین توالی شده در ناحیه ژنی پروتئین پوششی نشان داد که چهار جدایه مازندران با سایر جدایه‌های ویروس موزائیک نیشکر بین ۷۸ تا ۹۹ ٪ در سطح نوکلئوتیدی مشابهت دارند که بیشترین شباهت با جدایه EGY7-1 از مصر (بین ۹۷/۶ تا ۹۹ ٪) و جدایه‌های khzQ86 و khzL66 از خوزستان در ایران (بین ۹۶/۶ تا ۹۸/۸ ٪) و کمترین شباهت با جدایه BD8 از چین (بین ۷۸ تا ۷۸/۸ ٪) می‌باشد. همچنین تشابه توالی نوکلئوتیدی و آمینواسیدی این چهار جدایه با یکدیگر به ترتیب بین ۹۸/۹-۹۷ و ۱۰۰-۹۹/۳ ٪ تعیین گردید. این اولین گزارش از وجود SCMV در استان مازندران براساس ژن پروتئین پوششی است.

واژه‌های کلیدی: آنالیز فیلوژنتیکی، ذرت و نیشکر، ژن پروتئین پوششی، مازندران، ویروس موزائیک نیشکر

مقدمه

گیاهان خانواده غلات (*Gramineae*) از محصولات مهم کشاورزی در ایران و جهان هستند. در بین غلات گرمسیری، ذرت (*Zea mays*) و نیشکر (*Saccharum officinarum*) از جمله محصولات زراعی و صنعتی استراتژیک بوده و دارای اهمیت اقتصادی و تغذیه‌ای می‌باشند (۳۵). تاکنون از ایران، چندین ویروس از خانواده پوتی‌ویریده (*Potyviridae*) گزارش شده‌اند که بر روی ذرت، گندم، جو، نیشکر و سورگوم خسارت ایجاد می‌کنند. موزائیک، مهم‌ترین و گسترده‌ترین بیماری ویروسی در نیشکر و ذرت است که به طور قابل ملاحظه‌ای، تولید این گیاهان زراعی را کاهش می‌دهد (۱۵، ۱۸ و ۲۱). یکی از ویروس‌های مهم و اقتصادی نیشکر و ذرت که سبب کاهش شدید محصول و خسارت قابل توجهی در بسیاری از کشورها می‌شود، ویروس موزائیک نیشکر (*Sugarcane mosaic virus*; SCMV) عضو جنس پوتی‌ویروس (*Potyvirus*) از خانواده پوتی‌ویریده است (۷ و ۲۹). این ویروس به همراه شش گونه دیگر به نام ویروس موزائیک کوتولگی ذرت (*Maize dwarf mosaic virus*; MDMV)، ویروس موزائیک سورگوم (*Sorghum mosaic virus*; SrMV)، ویروس موزائیک قیاق (*Johnsongrass mosaic virus*; JGMV)، (۲۹ و ۳۰)، ویروس موزائیک ذرت (*Zea mosaic virus*; ZeMV) (۲۸)، ویروس موزائیک پنی‌سیتوم (*Pennisetum mosaic virus*; PenMV) (۱۲) و ویروس رگه‌ای علف باغ (*Cocksfoot streak virus*; CSV) (۱۷) زیرگروه SCMV در جنس پوتی ویروس را تشکیل می‌دهند (۷). این هفت ویروس متعلق به زیرگروه

۱، ۲ و ۴- به ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار و استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: (Email: mehrvar@um.ac.ir)
۳- استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران
DOI: 10.22067/jpp.v30i4.50484

SCMV، با شته به طریق ناپایا منتقل شده و سبب موزائیک، کوتولگی وکاهش محصول در ذرت، سورگوم، نیشکر و دیگر گیاهان خانواده غلات می‌شوند (۹ و ۳۰). در بین این ویروس‌ها فقط ویروس موزائیک نیشکر و ویروس موزائیک سورگوم به عنوان آلوده کننده نیشکر در شرایط طبیعی شناخته شده‌اند و به عنوان عوامل اصلی موزائیک نیشکر هستند (۱۸ و ۲۱). همانند سایر پوتی‌ویروس‌ها، ژنوم ویروس موزائیک نیشکر از یک رشته اسید ریبونوکلئیک تک‌لای مثبت، به طول تقریبی ۱۰۰۰۰ نوکلئوتید تشکیل شده است که در انتهای '۳ دارای polyA و در انتهای '۵ نیز دارای Vpg می‌باشد. پیکره این ویروس رشته‌ای شکل، انعطاف پذیر، فاقد غشا و به طول ۷۵۰ نانومتر و عرض ۱۳-۱۱ نانومتر است (۱۹). بیماری موزائیک نیشکر برای اولین بار در سال ۱۹۱۶ در آمریکای جنوبی مشاهده شد اما عامل آن در آن زمان هنوز ناشناخته بود (۸). ویروس موزائیک نیشکر، برای اولین بار در سال ۱۹۶۳ در ایالت اوهایو (Ohio) در آمریکا گزارش شد (۲۰). این ویروس پراکنش جهانی دارد و تاکنون در ۲۵ کشور دنیا گزارش شده است (۳۲). خسارت اقتصادی آن به حساسیت واریته‌ها، استرین ویروس، برهمکنش ویروس با دیگر بیمارگرها، جمعیت ناقل و شرایط محیطی بستگی دارد (۱۶). میزان خسارت ناشی از کاهش محصول در اثر آلودگی با این ویروس، بیش از ۵۰-۳۰ درصد گزارش شده است (۳۶). علائم تشخیص ویروس موزائیک نیشکر شامل موزائیک، کوتولگی، رنگ پریدگی، کاهش وزن گیاه و در نتیجه کاهش کمیت و کیفیت محصول است (۱۳ و ۲۹). با این‌حال معمولاً علائم به تنهایی جهت شناسایی این ویروس کافی نیست زیرا ممکن است علائم ناشی از حضور بیش از یک ویروس باشد (۲۷). ویروس موزائیک نیشکر در ایران در سال ۱۳۷۲ از خوزستان گزارش گردید و بر اساس روابط سرولوژیکی و خصوصیات مورفولوژیکی، جدایه SCMV-SC-1 نامیده شد (۳). ترادف نوکلئوتیدی حدود ۷۰۰ باز از ناحیه '۳ ژنوم جدایه‌های SC-Q86 و SCMV-CP68 که شامل ناحیه 3'-UTR و قسمتی از انتهای '۳ ژن پروتئین پوششی (CP) بود، توسط قاسمی تعیین شد (۱۴). معصومی و همکاران (۲۲ و ۲۳) جدایه‌های ویروس موزائیک نیشکر از خوزستان را به طریق آنالیز مولکولی بررسی نموده و آن‌ها را سویه SCMV-A تشخیص دادند. معصومی و همکاران (۲۴) جدایه‌های KhzQ86 و KhzL66 جدا شده از مزارع نیشکر در خوزستان را با استفاده از آنالیز مولکولی ناحیه CP-UTR مورد بررسی قرار دادند. بر اساس گزارش محمدی و همکاران (۲۶)، پوتی‌ویروس شایع و غالب مزارع ذرت استان تهران، این ویروس می‌باشد. برای تشخیص و تعیین سویه‌های SCMV در دنیا، بیشتر محققین از آنالیز ترادف نوکلئوتیدی ناحیه '۳ ژنوم، یعنی CP-UTR استفاده کرده‌اند (۱ و ۲). آنالیزهای فیلوژنی جنس‌های خانواده پوتی‌ویریده نشان داد که استفاده از توالی ناحیه 3'-UTR و پروتئین پوششی برای شناسایی گونه‌ها و استرین‌ها بسیار مناسب است (۶). در استان مازندران تاکنون هیچ بررسی دقیق و جامعی از وجود ویروس موزائیک نیشکر در مناطق کشت نیشکر و ذرت این استان صورت نگرفته است. هدف این تحقیق، شناسایی و تعیین برخی از خصوصیات مولکولی این ویروس در استان مازندران می‌باشد. به همین منظور چهار جدایه SCMV جدا شده از مزارع نیشکر و ذرت مناطق مختلف استان با استفاده از آنالیز مولکولی ناحیه ژن CP مورد بررسی قرار گرفت و جایگاه تاکسونومیکی آنها در میان جدایه‌های SCMV تعیین گردید.

مواد و روش‌ها

در تابستان سال‌های ۱۳۹۲ و ۱۳۹۳ از مزارع نیشکر و ذرت شهرستان‌های قائمشهر، ساری و بابلسر که دارای علائم موزائیک و کوتولگی بودند (شکل ۱)، تعداد ۴۵ نمونه جمع‌آوری گردید. با استفاده از کیت استخراج اسید ریبونوکلئیک (شرکت دنازیست، ایران) و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده، اسید ریبونوکلئیک کل از بافت گیاهی استخراج شد. با استفاده از آغازگرهای اختصاصی SCMV-R3 و SCMV-F4، که بر اساس توالی‌های حفاظت شده در ناحیه پروتئین پوششی طراحی شده‌اند (۲ و ۳۴)، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با نسخه‌برداری معکوس (Reverse Transcription- PCR; RT-PCR) انجام شد. با استفاده از اسید ریبونوکلئیک کل استخراج شده، آغازگر برگشت و آنزیم MMLV-Reverse Transcriptase (Thermo Scientific, USA)، cDNA سنتز شد. آزمون PCR در حجم ۲۵ میکرولیتری و با استفاده از آغازگرهای رفت و برگشت و آنزیم Taq DNA polymerase (Thermo Scientific, USA)، مطابق دستورالعمل شرکت سازنده انجام گرفت. پروفایل دمایی زیر برای PCR انجام شد: یک چرخه در دمای $^{\circ}C$ ۹۴ به مدت ۳ دقیقه و ۳۵ چرخه شامل دمای $^{\circ}C$۹۴ به مدت ۳۰ ثانیه، $^{\circ}C$۵۵ به مدت ۳۰ ثانیه و $^{\circ}C$۷۲ به مدت ۹۰ ثانیه و در نهایت یک چرخه در دمای $^{\circ}C$ ۷۲ به مدت ۷ دقیقه. پس از الکتروفورز محصولات حاصل از PCR بر روی ژل آگارز ۱٪، باندهای تکثیری در ناحیه مورد انتظار (۹۰۰ جفت باز) با استفاده از کیت Gel Recovery kit (دنازیست، ایران) خالص شده و به داخل ناقل پلاسمیدی pTG19-T همسانه‌سازی شدند. پلاسمیدهای نوترکیب، به داخل سلول‌های مستعد *Escherichia coli* سویه DH5α تراریخت شدند. همسانه‌های حاوی ژن مورد نظر از طریق کلونی پی سی آر (Colony PCR) با استفاده از آغازگرهای M13 شناسایی شدند. دی.ان.ای پلاسمیدهای نوترکیب با استفاده از کیت Plasmid DNA isolation (دنازیست، ایران) استخراج شده و توسط شرکت ماکروژن کره جنوبی تعیین توالی شدند. توالی‌های حاصل، در پایگاه اطلاعاتی NCBI با برنامه BLASTn با توالی‌های موجود در بانک ژن مقایسه شدند. پس از ادغام توالی‌های حاصل از ۱

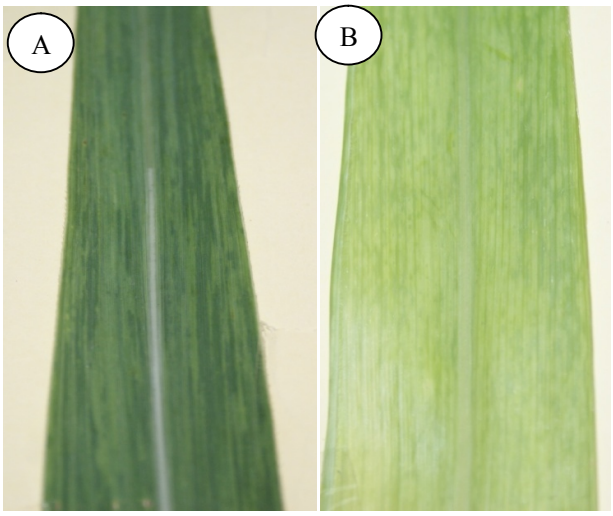
تا ۲ همسانه، توالی استنتاجی (Consensus sequence) با استفاده از نرم افزار DNAMAN7 بـه دسـت آمـد. مقایسـه هـم‌ردیـف‌سـازی چندگانه (Multiple alignment) توالی نوکلئوتیدی بین جدایه‌هـای شناسایی شده در این مطالعه و سایر جدایه‌های ثبـت شـده در بانـک ژن، با استفاده از برنامه ClustalW2 و نرم‌افزار DNAMAN7 انجام شد. درخت فیلوژنتیکی حاصل از همردیـف‌سـازی چندگانـه بـه روش Neighbor joining به وسیله برنامه MEGA 6 و بر اسـاس ۱۰۰۰ تکرار (bootstrap) نیز ترسیم گردید (۳۱).

نتایج

واکنش RT-PCR با استفاده از آغازگرهای اختصاصی مربوط به ژن پروتئین پوششی، منجر به تکثیر قطعه‌ای به طول ۹۰۰ جفت بـاز در ۳۵ نمونه آلوده شد (شکل ۲). از بین نمونه‌های آلوده به ویـروس، عمده‌ترین علائمی که مشاهده گردید موزائیک سیستمیک به صورت نوارهای سبز رنگ پریده و سبز تیره در یک یا دو طرف رگبرگ میانی برگ‌ها بود (شکل ۱). محصول PCR مربوط به چهار جدایه با توجـه به نوع گیاه میزبان و مکان نمونه‌برداری پس از همسانه‌سازی در ناقل pTG19-T، توالی‌یابی شدند. جدایـه‌هـای MAZ-SCR1 و MAZ-SCR2 از نیشکر و جدایه MAZ-MR از ذرت در شهرستان قائمشهر و جدایـه MAZ-MB از ذرت در شهرسـتان بابلسـر (بهنمیـر) جـدا گردید. آنالیز بلاست توالی‌ها نشـان داد کـه قطعـات تکثیـر شـده در واکنش PCR مربوط به ژن پروتئین پوششی ویروس موزائیک نیشکر است.

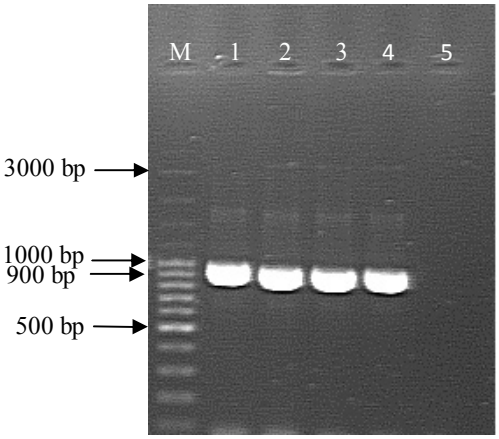
در توالی‌های آمینواسیدی جدایه‌های مازندران مشخص شـد کـه اسیدهای آمینه آرژنین (R) و آسپارتیک اسید (D) کـه محـل اتصـال پروتئین پوششی به اسید ریبونوکلئیک هنگام مونتاژ پیکـره ویـروس هستند (۱۰)، به ترتیب در موقعیت‌های ۲۰۲ و ۲۴۶ این ناحیه از ژنوم قرار دارند. موتیف حفاظت شده DAG (موقعیت ۷-۵) کـه در انتقـال با شته دخالت دارد (۴)، موتیف K/DK/DV (موقعیـت ۷۹-۷۵) کـه محل برش ناحیه انتهای آمینی (N-terminal) ژن پروتئین پوششـی است و همچنین موتیـف‌هـای حفاظـت شـده MVWCIENGCSP (موقعیت ۱۷۱-۱۶۱) و QMKAAA (موقعیت ۲۶۹-۲۶۴) (۱۱) کـه در ناحیه پروتئین پوششی اغلب پوتی‌ویروس‌ها دیده می‌شوند، در این توالی‌ها مشاهده شدند.

در آنالیز فیلوژنتیکی، ابتدا توالی‌هـای نوکلئوتیـدی ژن پـروتئین پوششی جدایه‌های ویروس موزائیک نیشکر از کشورهای مختلـف در بانک ژن، بطور جداگانه همردیف‌سازی شـدند و درخـت فیلـوژنتیکی ترسیم گردید (اطلاعات نشان داده نشده است). از بـین جدایـه‌هـای مذکور، ۳۲ جدایه به عنوان نماینده انتخاب شده، با چهار جدایه مـورد بررسی در این تحقیق همردیف‌سازی، و در یک درخـت فیلـوژنتیکی آنالیز شدند.



شکل ۱- علائم موزائیک به شکل نوارهای سبز رنگ پریده و سبز تیره در برگ نیشکر (A) موزائیک و نوارهای کلروتیک زرد در برگ ذرت (B) آلوده به SCMV

Figure 1- A: mosaic patterns and pale green strips on sugarcane leaf, B: mosaic and yellow chlorotic strips on maize leaf infected by SCMV



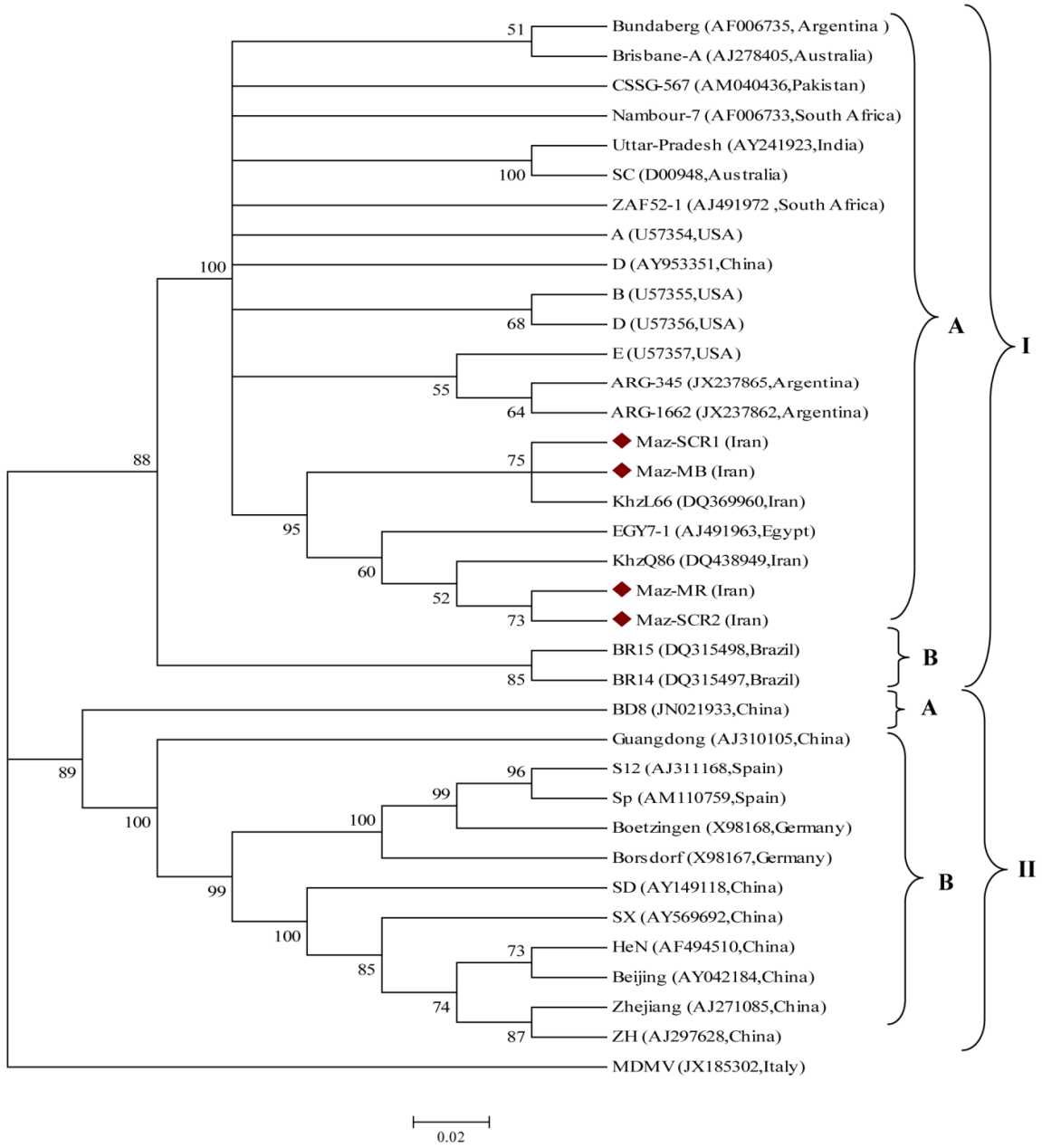
شکل ۲- نقوش الکتروفورزی قطعات تکثیر شده (۹۰۰ جفت باز) در RT-PCR مربوط به ژنوم کامل پروتئین پوششی ویروس موزائیک نیشکر در ژل آگارز ۱ ٪ ۱- جدایه MAZ-SCR1 ۲-جدایه MAZ-SCR2 ۳- جدایه MAZ-MR ٤- جدایه MAZ-SCB ٥- گیاه سالم نیشکر (کنترل منفی) M- نشانگر مولکولی ۱۰۰ جفت بازی (Thermo Scientific, USA)

Figure 2- Electrophoresis patterns of DNA fragments amplified by RT-PCR in 1% agarose gel related to SCMV isolates 1. MAZ-SCR1 2. MAZ-SCR2 3. MAZ-MR 4. MAZ-SCB 5. Healthy sugarcane plant (negative control) M: 100 bp DNA marker (Thermo Scientific, USA)

مطالعات تبارزائی نشان داد که جدایه‌های ویروس موزائیک نیشکر بر اساس ترادف نوکلئوتیدی ژن CP در دو گروه اصلی جدا از هم (I, II) قرار گرفته و هر گروه نیز به دو زیرگروه (A,B) تقسیم می‌شود (شکل ۳). جدایه‌های مازندران در کنار جدایه‌های خوزستان (khzQ86 و khzL66) و مصر (EGY7-1) یک زیرشاخه جداگانه‌ای را تشکیل می‌دهند که با تعداد دیگری از جدایه‌ها از آمریکا، آرژانتین، استرالیا، پاکستان، هند، چین و آفریقای جنوبی در زیرگروه IA قرار می‌گیرند. زیرگروه IB شامل جدایه‌های برزیل می‌باشد. در گروه II اکثر جدایه‌های چین و چندین جدایه از آلمان و اسپانیا قرار می‌گیرند. مشابهت نوکلئوتیدی جدایه‌های مازندران با اعضای گروه I از ۸۲ تا ۹۹ درصد و با اعضای گروه II از ۷۸ تا ۸۲/۱ درصد می‌باشد. میزان مشابهت نوکلئوتیدی بین این دو گروه ۸۱ ٪ می‌باشد. این در حالی است که میزان تشابه درون هر گروه بیشتر از ۷۹ ٪ است. مقایسه هم‌ردیف‌سازی چندگانه توالی نوکلئوتیدی و آمینواسیدی هر یک از جدایه‌های شناسایی شده در این مطالعه با سایر جدایه‌های موجود در دنیا نشان داد که در سطح نوکلئوتیدی جدایه‌های مازندران کمترین شباهت را با جدایه BD8 از چین (بین ۷۸ تا ۷۸/۸ ٪) و بیشترین شباهت را با جدایه‌های khzQ86 و khzL66 از خوزستان (بین ۹۶/۶ تا ۹۸/۸ ٪) و جدایه EGY7-1 از مصر (بین ۹۷/۶ تا ۹۹ ٪) دارند. در سطح آمینواسیدی نیز جدایه‌های مازندران کمترین شباهت را با جدایه BD8 از چین (بین ۷۹/۵ تا ۷۹/۹ ٪) و بیشترین شباهت را با جدایه‌های khzQ86 و khzL66 از خوزستان (بین ۹۹ تا ۱۰۰ ٪) و جدایه EGY7-1 از مصر (بین ۹۹/۷ تا ۱۰۰ ٪) دارند. همچنین تشابه توالی نوکلئوتیدی و آمینواسیدی این چهار جدایه با یکدیگر به ترتیب بین ۹۸/۹-۹۷ و ۱۰۰-۹۹/۳ درصد تعیین گردید. با توجه به دندروگرام رسم شده بین دندروگرام تبارزائی و شباهت نوکلئوتیدی جدایه‌ها همخوانی وجود دارد.

بحث

وجود پوتی‌ویروس‌های غلات در مناطق کشت این محصولات، تهدیدی محسوب می‌شود و شناسایی این ویروس‌ها و روابط آن‌ها با یکدیگر از اهمیت زیادی برخوردار است. در این تحقیق وجود ویروس موزائیک نیشکر از مناطق کشت نیشکر و ذرت استان مازندران به روش مولکولی اثبات گردید و جایگاه فیلوژنتیک جدایه‌های آن در میان سایر جدایه‌های موجود در بانک ژن براساس ژن پروتئین پوششی تعیین شد. با توجه به این‌که توصیه ارقام مقاوم نیشکر و ذرت جهت کنترل خسارت این ویروس در هر منطقه، با آگاهی از نوع سویه یا سویه‌های ویروس موجود در آن منطقه امکان پذیر است و نیز به دلیل عدم آگاهی از وضعیت سویه‌های این ویروس در شمال کشور، این پژوهش انجام شده است. اگرچه ژن CI (Cylindrical inclusion) برای مقایسه و تمایز گونه‌ها و سویه‌های پوتی‌ویروس‌ها پیشنهاد شده است (۱) ولی هنوز در بسیاری از منابع استفاده از ناحیه CP-UTR متداول است. وجود موتیف‌های حفاظت شده در توالی آمینواسیدی جدایه‌های مازندران تأییدی بر توالی‌یابی صحیح جدایه‌ها و قرار گرفتن آنها در جنس *Potyvirus* و گونه SCMV است. جدایه‌های ایران با تشابه نوکلئوتیدی بین ۹۸/۹-۹۶/۶ ٪ با یکدیگر و ۹۴/۶ الی ۹۹ ٪ با اعضای زیرگروه IA در کنار یکدیگر در این زیرگروه قرار گرفتند.



شکل ۳- دندروگرام حاصل از تطابق توالی نوکلئوتیدی ژن پروتئین پوششی جدایه‌های ویروس موزائیک نیشکر با استفاده از روش Neighbor-joining و نرم افزار Mega 6 اعداد نمایانگر درصد bootstrap هستند و مقدار bootstrap، براساس ۱۰۰۰ تکرار برای محاسبه روابط فیلوژنتیکی به کار رفته است. مقادیر bootstrap بیشتر از ۵۰ درصد روی گره‌ها نشان داده شده است و ریشه‌های با ارقام کمتر از آن فشرده شده‌اند. جدایه‌ها روی درخت براساس نام جدایه (شماره دسترسی، کشور منشا جدایه) مشخص شده‌اند. جدایه‌های مورد بررسی در این مطالعه علامت‌دار شده‌اند. ویروس موزائیک کوتولگی ذرت (*Maize dwarf mosaic virus; MDMV*) به عنوان عضو برون گروه در نظر گرفته شده است

Figure 3- Phylogenetic tree constructed from the alignment of nucleotide sequences of coat protein gene of 36 SCMV isolates by using MEGA 6 software program and neighbor -joining method based on 1000 replicates. The numbers indicate bootstrap percentage. Bootstrap values higher than 50 are indicated on nodes and the nodes less than 50 were condensed. Isolates are indicated in the tree by isolate name (accession number, geographical origin of collection). Mazandaran isolates of SCMV are marked. *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV) was included as an out-group

مطابق آنالیز فیلوژنتیکی و تشابه نوکلئوتیدی جدایه‌های ایران نزدیک به هم هستند و نزدیکترین ترادف‌ها به ترادف‌های ایران جدایه مصر (EGY7-1) است که با همدیگر در درخت فیلوژنتیکی یک زیرشاخه جداگانه‌ای را تشکیل می‌دهند. نتایج به دست آمده تا حدودی مشابه نتایج معصومی و همکاران (۲۴) بود.

به عقیده معصومی و همکاران (۲۴) استرین‌های ایرانی منشا خارجی داشته و احتمالا با قلمه‌های وارداتی نیشکر به داخل کشور وارد شده‌اند و پس از ورود به ایران مشتق شده‌اند. با توجه به تاریخچه واردات و کشت نیشکر در ایران، ابتدا قلمه‌های نیشکر از اندونزی، استرالیا، هند و مصر وارد کشور شده (سال ۱۳۱۶) و در منطقه خوزستان کشت شدند و پس از آن از کشورهایی چون آمریکا، آرژانتین و برزیل نیز قلمه‌های نیشکر وارد کشور (سال ۱۳۲۸) و کشت شده‌اند (۵)؛ از طرفی چون قلمه‌های کشت شده در استان مازندران نیز از خوزستان تأمین می‌شدند از این‌رو از نتایج این تحقیق و نتایج سایر محققین این‌طور استنباط می‌شود که دلیل شباهت زیاد جدایه‌های ایران به مصر (بر اساس ژن CP) و جدایه‌های آرژانتین و استرالیا (بر اساس ژن CI) در استان مازندران (مرادی و همکاران، ۱۳۹۲ چاپ نشده[1]، ۲۵)، قلمه‌های وارداتی است. از آنجا که ویروس موزائیک نیشکر در طبیعت توسط شته‌ها بصورت ناپایا منتقل می‌شود، کنترل مستقیم آن با مواد شیمیایی و یا کنترل شته‌های ناقل تأثیر چندانی ندارد، از این‌رو کشت ارقام مقاوم ذرت و نیشکر مؤثرترین راه کنترل این ویروس شناخته شده است (۳۲)؛ که این امر نیاز به درک کامل از تنوع ژنتیکی عامل بیماری‌زا و همچنین برهمکنش با کولتیوارها دارد، چرا که با ظهور استرین‌ها یا ویروس‌های جدید ممکن است شکستن مقاومت رخ دهد. علاوه بر این، ویروس موزائیک نیشکر و ویروس موزائیک سورگوم که مهم‌ترین و اصلی‌ترین عامل بیماری موزائیک نیشکر در دنیا هستند (۱۸)، اغلب اوقات باهم اثر هم‌افزایی داشته و بطور مشترک گیاه را آلوده می‌کنند و به نظر می‌رسد که آلودگی مخلوط این ویروس‌ها، ویرولانس بیشتری دارد (۳۳). از این‌رو پیشنهاد می‌شود مطالعات بیشتری در زمینه شناسایی فراتر سویه‌های ویروس موزائیک نیشکر و تنوع ژنتیکی ویروس و نژادهای وابسته در یک منطقه و برهمکنش آن‌ها با دیگر بیمارگرها صورت گیرد تا بدین وسیله راهگشایی در جهت درک تکامل و توسعه بیمارگر برای معرفی ارقام مقاوم باشد.

منابع

1- Adams M.J., Antoniw J.F., and Fauquet C.M. 2005. Molecular criteria for genus and species discrimination within the family *Potyviridae*. Archives of Virology, 150: 459–479.
2- Alegria O.M., Royer M., Bousalem M., Chatenet M., Peterschmitt M., Girard J-C., and Rott P. 2003. Genetic diversity in the coat protein coding region of eighty-six *Sugarcane mosaic virus* isolates from eight countries, particularly from Cameroon and Congo. Archives of Virology, 148: 357–372.
3- Amiri F., and Izadpanah K. 1993. Purification, serology and transmission of *Sugarcane mosaic virus* in Khuzestan. p. 126. Proceedings of the 11th Iranian plant protection congress, 23-27 Aug. 1993. Rasht, Iran. (In Persian)
4- Atreya P.L., Lopez-moya J.J., Chu M., Atreya C.D., and Pirone T.P. 1995. Mutational analysis of the coat protein N-terminal amino acids involved in potyviral transmission by aphids. Journal of General Virology, 76: 265–270.
5- Barat Shooshtari M., Ahmadian S., Asfia Gh. Sugarcane in Iran, (Aeej press, Tehran, 2008), 337 p (In Persian)
6- Berger P.H., Wyatt S.D., Shiel P.J., Silbernagel M.J., and Druffel K. 1997. Phylogenetic analysis of the *Potyviridae* with emphasison legume-infecting potyviruses. Archives of Virology, 142: 1979±1999.
7- Berger P.H., Adams M.J., Brunt A.A., Hill J.H., Hammond J., Jordan R.L., Morales R.J., Ohki S.T., Rybicki E., Uyeda I., and Vetten H.J. 2005. The *Potyviridae*. In: Fauquet C, Mayo M, Maniloff F, Desselberger U, Ball L (eds) Virus taxonomy-classification and nomenclature of viruses, 8th report of the ICTV. Elsevier, San Diego, pp 819–841.
8- Brandes E.W. 1919. The mosaic disease of sugarcane and other grasses. Technical Bulletin, US Department of Agriculture, 829, 1–26.
9- Chen J., Chen J., and Adams M.J. 2002. Characterization of potyviruses from sugarcane and maize in China. Archives of Virology, 147: 1237-1246.
10- Dolja V.V., Haldeman R., Robertson N.L., Dougherty W.G., and Carrington J.C. 1994. Distinct functions of capsid protein in assembly and movement of *tobacco etch potyvirus* in plants. EMBO Journal, 13: 1482–1491.
11- Dujovny G., Sasaya T., Koganesawa H., Usugi T., Shohara K., and Lenardon S.L. 2000. Molecular characterization of a new potyvirus infecting sunflower. Archives of Virology, 145: 2249–2258.
12- Fan Z.F., Wang W.J., Jiang X., Liang X.M., Wang F.R., and Li H.F. 2004. Natural infection of maize by *Pennisetum mosaic virus* in China. Plant Pathology, 53: p 796.
13- Fuchs E., and Grüntzig M. 1995. Influence of *Sugarcane mosaic virus* (SCMV) and *maize dwarf mosaic virus*

[1] جدایه‌های NRA و ZRA با شماره دسترسی KJ135788 و KJ135789

(MDMV) on the growth and yield of two maize varieties. Journal of plant disease and Protection, 102: 44-50.
14- Ghasemi S. 2005. Grouping of poaceae potyviruses in Iran on the basis of serological relationship and sequence of the 3' region of the genome and study of VPg-HC-Pro interaction of *Potato virus Y* using yeast two hybrid system. PhD Thesis, Shiraz University.
15- Gomeza M., Ragob A.M., and Serino G. 2009. Rapid identification of viruses causing sugarcane mosaic by direct sequencing of RT-PCR products from crude extracts: A method for large scale virus surveys. Journal of Virological Methods, 157: 188–194.
16- Goodman B.S. 1999. A study of South African strains of *Sugarcane Mosaic Potyvirus* (SCMV) identified by sequence analysis of the 5′ region of the coat protein gene. M.S. thesis, Department of Biotechnology, Durban University of Technology, Durban, South Africa.
17- Gotz R., and Maiss E. 2002. The complete sequence of the genome of *Cocksfoot streak virus* (CSV), a grass infecting Potyvirus. Archives of Virology, 147: 1573–1583.
18- Grisham M.P. 2000. Mosaic. In: Rott P, Bailey RA, Comstock JC, Croft BJ, Saumtally AS (ed) A guide to sugarcane diseases. Cirad/Issct, Montpellier, France, pp 249–254.
19- Hull R. 2014. Plant virology (5th ed.). New York: Academic Press.1098 p.
20- Janson B.F., and Ellett C.W. 1963. A new corn disease in Ohio. Plant Disease reporter journal, 47: 1107-1108.
21- Koike H., and Gillaspie A.G. 1989. Mosaic. In: Diseases of Sugarcane-Major Diseases. (Ricaud, C., Eagan, B. T. and Gillaspie, A. G., eds.) Sientific Publishers, Amsterdam. Pp: 301-322.
22- Masumi M., Zare A., Ghasemi S., and Izadpanah K. 2004. Relationship between two dominant strains of *Sugarcane mosaic virus* (SCMV) from Khuzestan and other SCMV strains based on nucleotide sequence of 3 region of the genome. p. 314. Proceedings of the 16th Iranian plant protection congress, Vol. 2. 28 Aug-1 Sep. 2004. Tabriz, Iran. (In Persian).
23- Masumi M., Zare A., and Izadpanah K. 2006. Revision of *Sugarcane mosaic virus* strain grouping in the world on the basis of phylogenetic analysis of N-terminus of coat protein gene. Pp: 175-176. Proceedings of the 3rd Iranian congress of Virology, Jan 2006 Tehran, Iran. (In Persian)
24- Masumi M., Zare A., and Izadpanah K.A. 2007. Taxonomic position of two Iranian isolates of *Sugarcane mosaic virus* (SCMV) based on sequence of the 3'-region of the genome. Iranian Journal of Plant Pathology, 43: 1 (169); 1-16. (in Persian with English abstract)
25- Mirghasempour A., Hosseini A., Babaeizad V., and Hosseini S. 2014. Identification of causal agent of mosaic disease in sugarcane fields of Mazandaran province, Iran Proceedings of the 2nd national conference on applied researches in agriculture sciences, Tehran, Iran. (in Persian with English abstract)
26- Mohammadi M.R., Koohi-Habibi M., and Mosahebi G. 2009. Identification of the Prevalent Potyvirus on Maize in Corn Fields of Tehran Province and a Study on some of its Properties. Iranian Journal of Plant Protection Science, 40(1):43-53. (in Persian with English abstract)
27- Perera M.F., Filippone M.P., Ramallo C.J., Cuenya M.I., García M.L., Ploper L.D., and Castagnaro A.P. 2009. Genetic diversity among viruses associated with sugarcane mosaic disease in Tucumán, Argentina. Phytopathology, 99(1): 38-49.
28- Seifers D.L., Salomon R., Marie-Jeanne V., Alliot B., Signoret P., Haber S., Loboda A., Ens W., She Y.M., and Standing K.G. 2000. Characterization of a novel potyvirus isolated from maize in Israel. Phytopathology, 90: 505-513.
29- Shukla D.D., Tosic M., Jilka J., Ford R.E., Toler R.W., and 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.
30- Shukla D.D., Ward C.W., and Brunt A.A. 1994. The *Sugarcane mosaic virus* subgroup. In: The *Potyviridae*. CAB International,Wallingdorf, United Kingdom, pp. 360–371.
31- Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., and Kumar S. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. Molecular Biology and Evolution, 30: 2725-2729.
32- Wu L., Zu X., Wang S., and Chen Y. 2012. *Sugarcane mosaic virus* – Long history but still a threat to industry. Crop Protection, 42: 74-78.
33- Xu D.L., Park J.W., Mirkov T.E., and Zhou G.H. 2008. Viruses causing mosaic disease in sugarcane and their genetic diversity in southern. China. Archives of Virology, 153: 1031-1039.
34- Yang Z.N., and Mirkov T.E. 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.
35- Yousefi M. 2009. A comprehensive description of Agriculture, Agricultural Engineering (breeding, agriculture, science and technology of seed, ecological agriculture). Arshad press. 254 p.
36- Zhu M., Chen Y., Ding X-S., Webb S. L., Zhou T., Nelson R. S., 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 (4): 1291-1304.