



Original Article

Detection and Molecular Investigation of *Bean common mosaic virus* (BCMV) in Saffron Fields of Khaf City

Hassan Fallah¹, Seyedeh Atefeh Hosseini^{2*}

1- MSc in Plant Pathology, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Iran.

2- Associate Professor of Plant Pathology, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran.

* Corresponding author: ahosseini@birjand.ac.ir

Received: 11 March 2024, **Revised:** 15 May 2024, **Accepted:** 21 May 2024

Extended abstract

Introduction: Saffron, with the scientific name *Crocus sativus* L., belongs to the lily family (*Iridaceae*) and is one of the most important economic and strategic products of the country, making it important to investigate its limiting factors. Saffron is a strategic plant in Razavi Khorasan that has been played an important role in economy of this area in particular in Khaf city. According to statistical methods, 89% of saffron production is produced in Iran. Saffron has been infected by several viruses but until now there is not any report of infection with that is important species in potyviridae family and cause many symptoms on other products. *Bean common mosaic virus* is a member of potyviridae family with the positive single strand RNA genome that has rod-shaped particles caused decrease in quality and quantity in many plants, in this research, detection and molecular characterization of BCMV has been surveyed.

Materials and Methods: In order to detect and identify *Bean common mosaic virus* as one of the limiting factors in saffron farms, sampling of 705 samples of saffron in Khorasan Razavi province, Khaf city was carried out during the spring of 1402. The saffron samples had mosaic symptoms, dwarfism, plant deformation and zigzagging, which were transferred to the laboratory under cool conditions. Then their total RNA was extracted by Denazist Kit and RT-PCR test was carried out, using specific primers of the coat protein gene. The PCR products were electrophoresed. Results showed that in the three saffron samples, a fragment of 343 base pairs was amplified. The amplified fragments were reproduced, then extracted from gel and then 3 amplicons were sent to Macrogen Korea for sequencing. Coat protein sequences were analyzed by Blast n and aligned by Bioedit, phylogenetic tree was draw using BCMV sequences of the world and Iran, homology matrix was obtained using Sdtv.

Results and Discussion: In RT-PCR 14 saffron samples were amplified that 3 samples were chosen for sequencing. The results confirmed the infection of three saffron samples with the mentioned virus, and in the phylogeny studies of three saffron isolates in the



nucleoprotein coding region of the mentioned virus, compared to the world isolates available in the gene bank, which were related to different geographical regions, five separate groups were formed, from three Iranian isolate related to saffron, two isolates (B1, B2) were placed in group 4 close to isolates from Brazil and one isolate (B3) was placed in group 5 close to two isolates from Iran (Ahvaz and Zanjan). The most similarity of the isolates in this research was between two Iranian isolates B1 and B2 with three isolates MW534342, MW534343 and MW534344 from the country of Brazil from the African continent with a similarity percentage of 100% and also the least similarity of the Iranian isolates B1, B2 and B3 with isolate KC702888 from Iran in Lorestan with a similarity level of 71%.

Conclusion: This is the first survey of this virus in Razavi Khorasan that showed the infection of saffron field of Khaf city as one of the major areas of production of this product. Phylogenetic analysis of this virus showed that khaf isolates were located in two different groups that could be the result of different sources for entering of this virus in this area. The reason of separation of 3 isolates in different group should be the recombination among them. Although we detected many symptoms in the saffron fields BCMV was not detected in some of them. The reason behind of this could be related to the infection by other plant viruses that needs to be more investigated in the next scientific research.

Conflict of Interest: The authors declare no potential conflict of interest related to the work.

Keywords: Coat protein, Khaf, PCR, Phylogeny, Sequence, Specific primers.



نشریه پژوهش‌های زعفران (دو فصلنامه)
جلد دوازدهم، شماره اول، بهار و تابستان ۱۴۰۳
شماره صفحه: ۲۷-۱۵
doi 10.22077/JSR.2024.7414.1233

مقاله پژوهشی

ردیابی و بررسی مولکولی ویروس موزاییک معمولی لوبیا (BCMV) در مزارع زعفران شهرستان خواف

حسن فلاح^۱، سیده عاطفه حسینی^{۲*}

۱- دانش آموخته کارشناسی، ارشد بیماری شناسی گیاهی، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.

۲- دانشیار، بیماری شناسی گیاهی، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.

* نویسنده مسئول: ahosseini@birjand.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۲۱؛ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۲/۲۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۴/۰۱

چکیده

زعفران با نام علمی *Crocus sativus* L متعلق به خانواده زنبقیان (*Iridaceae*) از محصولات مهم اقتصادی و استراتژیک کشور می باشد، که بررسی عوامل محدود کننده آن حائز اهمیت است. به منظور ردیابی و شناسایی ویروس موزاییک معمولی لوبیابه عنوان یکی از عوامل محدود کننده در مزارع زعفران، طی بهار سال ۱۴۰۲ نمونه برداری از ۷۰۵ نمونه زعفران استان خراسان رضوی شهرستان خواف انجام شد. نمونه های زعفران دارای علائم موزاییک، کوتولگی، بدشکلی بوته و زیگزاگی شدن بودند که در شرایط خنک به آزمایشگاه منتقل شدند نمونه ها در آزمون RT-PCR و با استفاده از آغازگرهای اختصاصی ژن نوکلئو پروتئین، در سه نمونه زعفران قطعه ای به طول ۳۴۳ جفت باز تکثیر نمودند که جهت تعیین توالی به شرکت ماکروژن کره ارسال شدند. نتایج موید آلودگی سه نمونه زعفران به ویروس مذکور بود. در بررسی های تبارزایی سه جدایه زعفران در ناحیه کدکننده نوکلئوپروتئین ویروس یادشده همراه با سایر جدایه های موجود در بانک ژن و مربوط به مناطق مختلف جغرافیایی، پنج گروه جداگانه تشکیل دادند، از سه جدایه ایرانی مربوط به زعفران، دو جدایه (B1, B2) در گروه چهار نزدیک به جدایه هایی از برزیل و یک جدایه (B3) در گروه ۵ نزدیک به دو جدایه از ایران (اهواز و زنجان) قرار گرفت. بیشترین شباهت جدایه ها در این تحقیق بین دو جدایه ایرانی B1 و B2 با سه جدایه MW53432، MW53433 و MW53434 از کشور برزیل با درصد شباهت بالای ۹۵٪ مشاهده شد و همینطور کم ترین تشابه جدایه های ایرانی B1، B2 و B3 با جدایه KC702888 از کشور ایران در لرستان با سطح تشابه ۷۱٪ بود.

واژه های کلیدی: آغازگرهای اختصاصی، پرتئین پوششی، تبارزایی، توالی یابی، خواف، واکنش زنجیره ای پلیمرز.



مقدمه

زعفران با نام علمی (*Crocus sativus*) متعلق به خانواده زنبقیان (*Iridaceae*) گیاهی علفی، که از نظر بیولوژیکی یکساله ولی در شرایط زراعی می‌تواند به عنوان گیاهی چندساله کشت شود (Kochaki et al., 2015). پیازدار و به عنوان یکی از مهم‌ترین محصولات کشاورزی و گران‌بهاترین ادویه جهان است. که توجه روزافزون به ویژگی‌های زعفران از جمله ویژگی‌های ضد سرطانی، ضدافسردگی و ضدآلایمری آن موجب افزایش توجه دانشمندان به این گونه گیاهی در جهت بهبود کیفیت و کمیت تولید آن شده است (Grilli Caiola & Faoro, 2011). ایران بزرگ‌ترین تولیدکننده زعفران در دنیا می‌باشد و استان خراسان رضوی مقام اول تولید در جهان را دارد. و شهرستان خواف یکی از شهرستان‌های این استان خراسان رضوی با سطح زیر کشت ۹۱ هزار هکتار و نزدیک به ۷۶ کشت این محصول است که در شهرستان خواف ۴ هزار و ۲۰۰ هکتار به کاشت زعفران اختصاص دارد. براساس آمار سال ۱۳۹۶، ۸۹/۵ درصد از کل زعفران تولید شده در جهان به ایران تعلق دارد. علاوه بر استان نام‌برده این گیاه در استان خراسان جنوبی و شمالی، فارس، اصفهان، همدان نیز تولید می‌شود (Karbas, 2016).

آلودگی محصولاتی که به صورت رویشی تکثیر می‌شوند مثل زعفران گسترده است و تمام گیاهان یک رقم خاص ممکن است به وسیله ی یک یا چند ویروس آلوده شوند. گاهی علائم بیماری ویروسی نسبتاً ضعیف بوده و یا ویروس ممکن است در ارقام آلوده نهفته یا بدون بروز علائم باشد (Walkey & Webb, 1982). آلودگی ویروسی در چنین گیاهانی عواقب خطرناکی دارد زیرا هنگامی که آلودگی صورت بگیرد ویروس به طور خودکار از طریق اندام‌های تکثیری (مثل پیاز، غده و غیره) به نتاج منتقل می‌شود. توزیع اندام‌های تکثیری آلوده ممکن است موجب آلودگی کامل یک کلون (همسانه) شود. ارقام قدیمی که برای ده‌ها سال یا بیشتر از طریق رویشی تکثیر ممکن است به ویروس‌های متعددی آلوده باشند که موجب از دست دادن جنبه ی تجاری آن‌ها می‌شود زیرا ویروس‌ها را نمی‌توان در مزارع آلوده با استفاده از سموم شیمیایی کنترل نمود (Walkey, 1968).

Bean common mosaic virus (BCMV) اعضا جنس *Potyvirus* در خانواده ی *Potyviridae* است و ژنوم RNA تک رشته ای مثبت به طول تقریباً ۱۰ کیلو جفت باز دارد. پیکره های آن میله ای خمشی پذیر با اندازه تقریبی ۷۵۰×۱۵ نانومتر است. ژنوم ویروس دارای یک چارچوب خوانش باز است که یک پروتئین بزرگ را رمزگذاری می‌کند در نتیجه برش این مولکول بزرگ پروتئینی ۱۰ پروتئین فعال ویروسی تولید می‌گردد (King et al., 2012). در طبیعت بوسیله بذر و شته‌ها به ویژه شته های *Acyrtosiphon pisum*، *Myzus persicae*، *Aphis fabae* و *Aphis craccivora* به صورت ناپایا و در آزمایشگاه از طریق مایه زنی مکانیکی منتقل می‌گردد (Drijfhout, 1991). این ویروس از طریق کاهش کمیت و کیفیت محصول خسارت قابل توجهی وارد می‌کند و بسته به نوع رقم و زمان آلودگی گاهی تا ۸۰ درصد خسارت وارد می‌کند (Drijfhout, 1991). این ویروس سبب پسیک، زردی، بدشکلی برگ‌ها و کوتولگی می‌شود (Agrios, 2005). ویروس موزائیک معمولی لوبیا اولین بار در سال ۱۹۱۱ از آمریکا توسط دیریجفوت از لوبیا گزارش شد. در ایران برای اولین بار از مزارع لوبیا در منطقه دماوند شناسایی گردید (Najafi, 1969). در بررسی‌های بیشتر نشان داده شد که ویروس موزائیک معمولی لوبیا در اکثر مناطق کشت لوبیا در ایران وجود داشته و از عوامل اصلی کاهش عملکرد لوبیا در ایران است (Shahr-Ayin et al., 2001). مشخص شده است که BCMV دارای دو سروتیپ A و B بوده که در حال حاضر به عنوان دو گونه متفاوت معرفی شده‌اند. سروتیپ A به عنوان گونه *Bean common mosaic necrosis virus* (BCMNV) معرفی گردید. BCMNV روی ژنوتیپ‌های حامل ژن مقاومت غالب I در دمای بالا و پایین روی ارقام لوبیا ایجاد نکروز سیستمیک کشنده می‌کند. در صورتی که سروتیپ دیگر (B) که به عنوان گونه BCMV معرفی شده است تنها علائم موزائیک ایجاد میکند (Silbernagel et al., 2001). برادران و جعفرپور (Baradaran & Jafarpour, 1998) پراکنش BCMV را در منطقه مشهد و چناران بررسی نمودند. شهرآیین و همکاران (2001) با استفاده از روشهای سرولوژی و الکترون میکروسکوپی موفق به شناسایی برخی از

خراسان جنوبی گزارش شده است. اما گزارشی مبنی بر آلودگی مزارع زعفران به ویروس موزائیک معمولی لوبیا در شهرستان خواف موجود نمی باشد انجام شده در جهان حضور ۱۰۰ درصدی آن را بر روی زعفران تایید نکرده است. اولین قدم در کنترل عامل بیماری برای جلوگیری از خسارت شناسایی عامل بیماریزا هست بنابراین با توجه به علائم مشاهده شده روی زعفران که به صورت موزائیک بود و با توجه به شباهت گیاه شناسی به زنبق، تحقیق حاضر به شناسایی و بررسی مولکولی ویروس روی گیاه زعفران پرداخته است.

عوامل بیماریزای لوبیا در برخی مناطق کشور شدند. پیمبری و همکاران (2011) وجود BCMV را در استانهای تهران، کهگیلویه و بویراحمد و فارس گزارش کردند. سالاری و همکاران (2013) BCMV را از اراک و لاهیجان و کرج، نیشابور و زنجان گزارش کردند. تاکنون ویروس موزائیک خیار توسط حمای و حسینی (2023, Hammami & Hosseini)، ویروس موزائیک شدید زنبق توسط طاووسی و حسینی (2022, Tavoosi & Hosseini) و پژمردگی لکه ای گوجه فرنگی در تحقیقات فرخوند و همکاران (2019, Farrokhvand et al.) در مزارع زعفران استان

جدول ۱. محل جمع آوری نمونه های آلوده

Table 1. Areas of collection of contaminated samples

تعداد نمونه number of samples	تاریخ نمونه برداری Sampling date	مناطق نمونه برداری Sampling sites	نام استان Province's name
36	2023/04/06	عباس آباد Abbas Abad	خراسان رضوی-خواف Kh. Razavi
43	2023/04/07	فدک Fadak	خراسان رضوی-خواف Kh. Razavi
53	2023/04/07	صیدآباد Sayd Abad	خراسان رضوی-خواف Kh. Razavi
46	2023/04/08	مزرعه شیخ Mazrae Sheikh	خراسان رضوی-خواف Kh. Razavi
44	2023/04/09	خواف Khaf	خراسان رضوی-خواف Kh. Razavi
52	2023/04/07	خیر آباد Khair Abad	خراسان رضوی-خواف Kh. Razavi
55	2023/04/06	سلمان Salman	خراسان رضوی-خواف Kh. Razavi
32	2023/04/05	سلامی Salami	خراسان رضوی-خواف Kh. Razavi
28	2023/04/08	شهرک Sharak	خراسان رضوی-خواف Kh. Razavi
42	2023/04/09	سیجاوند Sijavand	خراسان رضوی-خواف Kh. Razavi
62	2023/04/05	حسن آباد Hassan Abad	خراسان رضوی-خواف Kh. Razavi
34	2023/04/05	علی آباد Ali Abad	خراسان رضوی-خواف Kh. Razavi
35	2023/04/08	حاجی آباد Haji Abad	خراسان رضوی-خواف Kh. Razavi
28	2023/04/04	سده Sedeh	خراسان رضوی-خواف Kh. Razavi
16	2023/04/04	میان رودی Mian rodi	خراسان رضوی-خواف Kh. Razavi
58	2023/04/09	چهارده Chahrdeh	خراسان رضوی-خواف Kh. Razavi
41	2023/04/07	احمدآباد Ahmed Abad	خراسان رضوی-خواف Kh. Razavi



شکل ۱. علائم BCMV بر روی گیاه زعفران
Figure 1. Symptoms of BCMV on saffron plant

جدول ۲- مشخصات آغازگرهای اختصاصی BCMV مورد استفاده در واکنش زنجیره ای پلیمرز برای تکثیر بخشی از ناحیه ی پوشش پروتئین (CP)

Table 2- Characteristics of BCMV specific primers used in the polymerase chain reaction for amplification of the coat protein (CP)

1	2	3	4	5	6	7
NO.	Oligo Name	Seq:5-3	MW	Water/ Tube(μl)	GC%	Mer
1	BCMVFcF1	مستقیم GCGGAGAATCTGTGCACCTACA	6744.4	195.72	54.55	22
2	BCM-NVcommonR	معکوس GTCCCKTGCAGTGTGCCT	5217.3	253.00	61.11	18

استخراج RNA

استخراج RNA کل به طور عمده از برگهای جوان و تازه گیاه و با استفاده از کیت استخراج RNA شرکت دنازیست (شماره کاتالوگ، FAVNK001) و مطابق دستورالعمل شرکت سازنده انجام گرفت.

آزمون نسخه برداری معکوس - واکنش زنجیره ای پلیمرز

در این تحقیق با آغازگر معکوس ویروس موزاییک معمولی لوبیا برای سنتز (cDNA) رشته مکمل ساخته شد (جدول ۲).

مواد و روش ها

تعداد ۷۰۵ نمونه گیاهی مشکوک به ویروس موزاییک معمولی، طی بازدید از مزارع زعفران استان خراسان رضوی- شهرستان خواف، در اوایل تابستان سال ۱۴۰۲ جمع آوری شد. نمونه های زعفران دارای علائم کوتولگی، کوچک شدن سطح برگ، زردی، موزاییک و زیگزاگی شدن برگ، چروکیدگی و بدشکلی برگها، جمع آوری و بر روی یخ به آزمایشگاه منتقل شد.

نرم افزار Mega10 انجام گردید (Tamura et al., 2013). رسم درخت فیلوژنی با Bootstrap 1000 برای ارزیابی صحت شاخه های درونی صورت گرفت. سپس مجموعه داده های هم ردیف شده برای مقایسه درصد همولوژی نوکلئوتیدی در نرم افزار SDTV مورد بررسی قرار گرفت (Muhire et al., 2014).

نتایج و بحث

بررسی علائم BCMV و تعیین توالی پروتئین پوششی

بررسی نمونه های با علائم موزاییک و زیگزاگی شدن برگ، چروکیدگی و بدشکلی برگها، با آزمون PCR نشان داد که نمونه های زعفران در برخی مناطق، آلوده به BCMV هستند و در مجموع ۱۴ نمونه آلوده تشخیص داده شد. در نمونه های زعفران جمع آوری شده از مناطق مختلف و نیز در یک مزرعه مشخص زعفران، تنوع علائم قابل توجهی را در نمونه های آلوده به BCMV نشان داد. برای همین منظور ۳ نمونه از ۱۴ نمونه آلوده که دارای باندهای با وضوح بالاتری بودند پس از خالص سازی از روی ژل، به شرکت ماکروژن کشور کره برای تعیین توالی ارسال شدند. نتایج نشان دهنده تشکیل باند حدود ۳۴۰ جفت بازی می باشد (شکل ۲). نمونه ها با نرم افزار Blast X و Blastn بررسی شد که بیشترین شباهت را با جدایه برزیل نشان دادند و سپس با نرم افزار Bioedit توالی ها اصلاح و هم ردیف سازی شدند. نهایتاً قطعه ای به طول ۳۴۰ جفت باز مربوط به پروتئین پوششی حاصل شد که در بررسی با نرم افزار Blastn شباهت نزدیکی به جدایه برزیل با شماره دسترسی MW534342 داشت.

بررسی تبارزایی

درخت تبارزایی بر اساس توالی ژن پروتئین پوششی به طول ۳۴۳ نوکلئوتید که به خوبی خوانش شده بود، ترسیم شد. بررسی تبارزایی جدایه ایرانی ویروس موزاییک معمولی لوبیا و ۲۹ جدایه موجود در بانک ژن با روش Maximum likelihood به عنوان بهترین روش انجام شد. مشخصات جدایه های بانک ژن نیز در جدول اطلاعات تبارزایی ذکر گردیده است (جدول ۵).

در درخت تبارزایی حاصل از مقایسه این جدایه ها با جدایه های موجود در بانک ژن بر مبنای مترادف ژن

بدین منظور در یک میکروتیوب، ۶ میکرولیتر آب، ۵ میکرولیتر RNA استخراج شده با ۲.۵ میکرولیتر آغازگر معکوس اضافه شد. پس از مخلوط کردن این مواد محلول به مدت یک دقیقه در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد در دستگاه ترموسایکلر قرار داده شد (جهت از بین بردن ساختمان های ثانویه RNA)، پس از گذشت این زمان نمونه ها را به مدت ۱ دقیقه روی یخ گذاشته، سپس مواد مرحله دوم که شامل dNTPs، ۲ میکرولیتر، RT buffer، ۳.۵ میکرولیتر و MMLV reverse transcriptase میکرولیتر (شرکت سپیدان آزما) با هم مخلوط شد. (جدول ۳). سپس مطابق با دستورالعمل، نمونه ها به مدت یک ساعت در دمای ۴۲ درجه سانتیگراد قرار گرفت.

مراحل انجام آزمون واکنش زنجیره ای پلیمرز

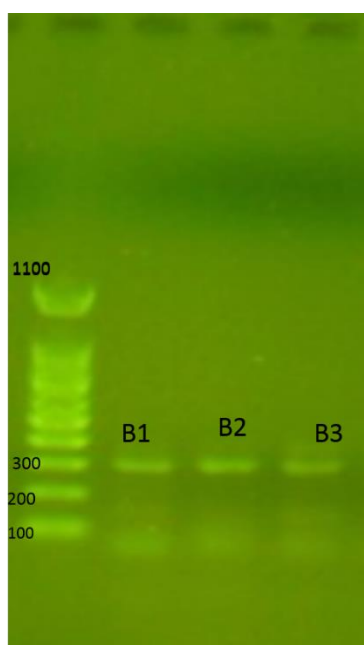
جهت تکثیر رشته DNA مراحل PCR (polymerase chain reaction) انجام گرفت. مواد استفاده شامل: PCR Master Mix، ۱۰ میکرولیتر (سیناکلون)، cDNA ۵ میکرولیتر، آب سه میکرولیتر، آغازگر معکوس و مستقیم هر کدام یک میکرولیتر استفاده گردید. سپس برنامه دمایی PCR با توجه به دمای اتصال آغازگرها برای هر واکنش به منظور مشاهده باند و انجام مکرر آزمون PCR تنظیم شد بدین شکل که یک چرخه در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه و به دنبال آن ۳۵ چرخه متشکل از دمای ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت پنج ثانیه، دمای ۵۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ ثانیه، دمای ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۳۵ ثانیه و در نهایت یک چرخه در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. محصولات PCR در ژل آگارز یک درصد حاوی رنگ گرین ویور (پارس طوس-ایران) الکتروفورز گردید.

توالی یابی، تجزیه و تحلیل تبارزایی

در این پژوهش از روش با استفاده از کیت خالص سازی از ژل با کیت تکاپوزیست (FAGCK001-2)، خالص سازی باندها از روی ژل صورت گرفت و باندهای خالص شده به شرکت ماکروژن کشور کره برای تعیین توالی ارسال شد. هم ردیف سازی نمونه های تعیین توالی شده با برنامه Custal W انجام شد (Thompson et al., 1994) درخت تبارزایی ویروسهای شناسایی شده با استفاده از روش Maximum likelihood (ML) و با

و با جدایه های MW534342، MW534343 و MW534344 از کشور زامبیا از قاره آفریقا با درصد شباهت ۱۰۰٪ دارد و همینطور کم ترین تشابه جدایه های ایرانی B1، B2 و B3 با جدایه KC702888 از کشور ایران در لرستان با سطح تشابه ۷۱٪ می باشد (شکل ۴).

پروتئین پوششی، پنج گروه اصلی تشکیل شد (درخت تبارزایی شامل ۵ گروه است) از سه جدایه ایرانی مربوط به زعفران، دو جدایه (B1, B2) در گروه ۴ نزدیک به جدایه هایی از برزیل و یک جدایه (B3) در گروه ۵ نزدیک به دو جدایه از ایران (اهواز و زنجان) قرار گرفت (شکل ۳). ماتریکس تشابه رسم شده با نرم افزار SDTV نشان داد که بیشترین شباهت دو جدایه ایرانی B1 و B2 با هم



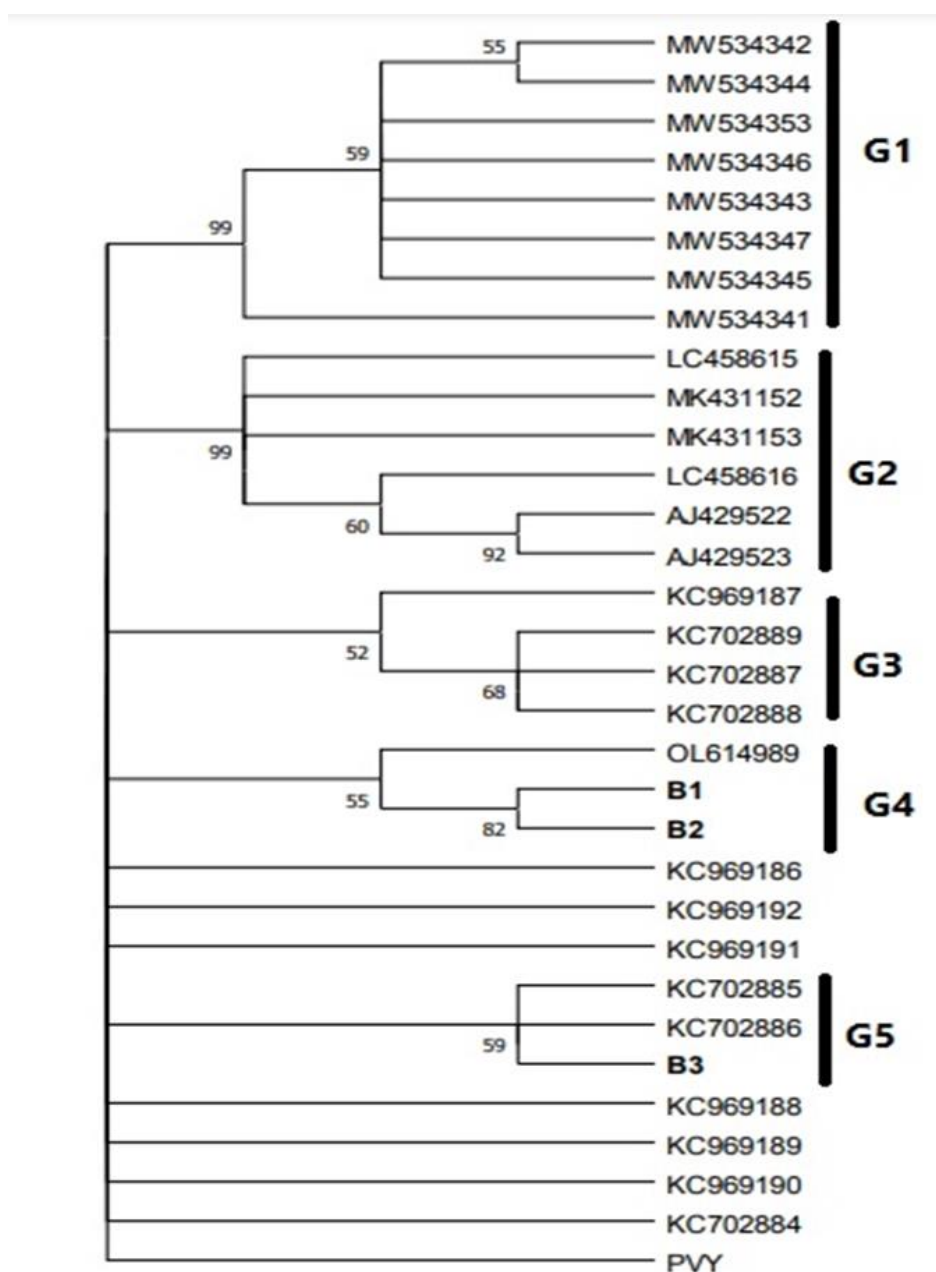
شکل ۲. الکتروفورز ژل آگارز محصول PCR تکثیر شده با آغازگرهای اختصاصی BCMV با باند ۳۴۳ جفت بازی، B1، B2 و B3 به ترتیب مربوط به جدایه هایی از خواف، خیر آباد و حسن آباد بود.

Fig 2. Agarose gel electrophoresis of the amplified PCR product with BCMV specific primers with a band of 343 bp, B1, B2, B3 is related to isolates from Khaf, Kheyraabad and HassanAbad.

جدول ۵. اطلاعات جدایه های موجود در درخت تبارزایی

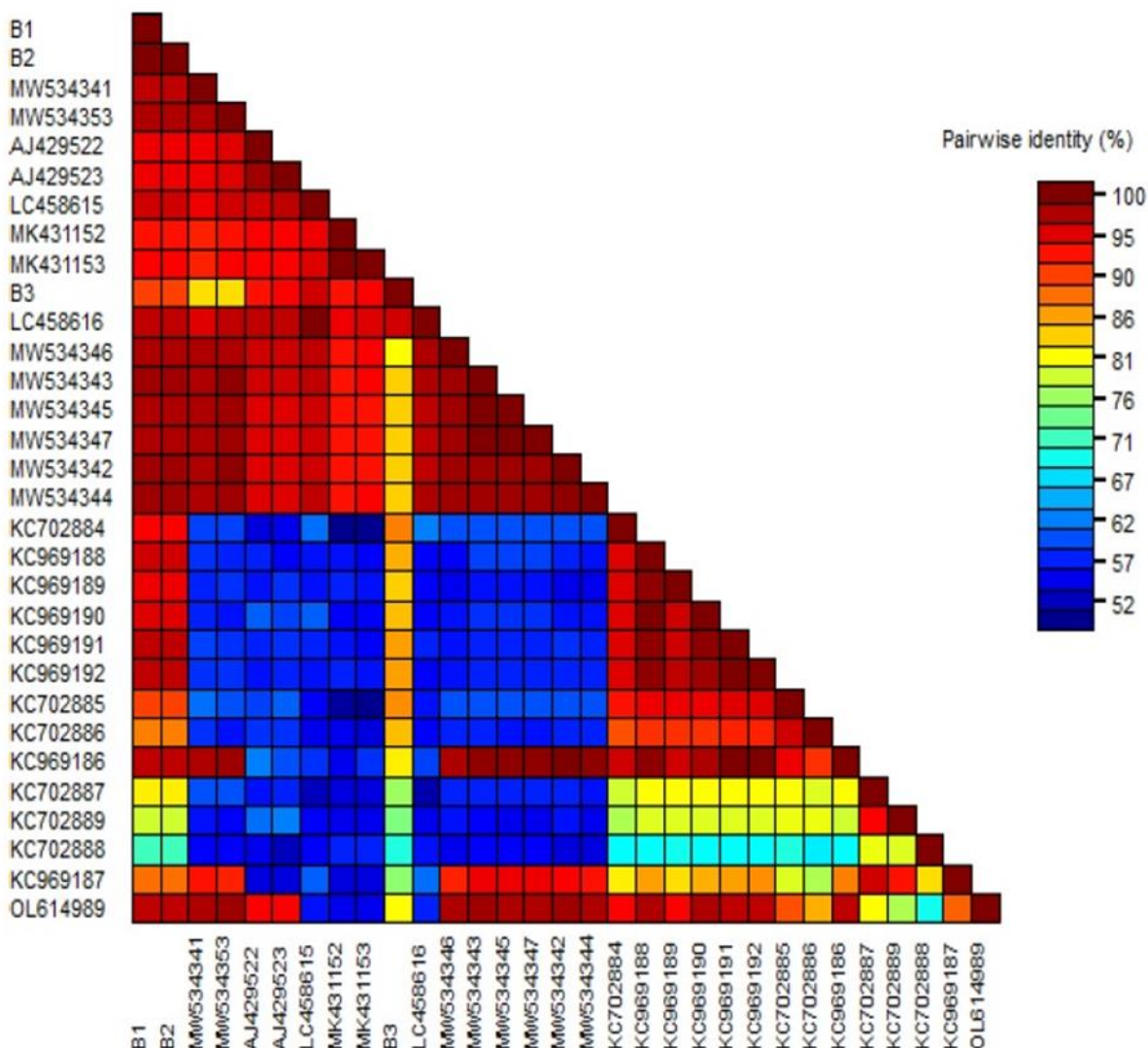
Table 5. Information of the isolates in the phylogenetic tree

ردیف	نام ایزوله ی ویروس	Accession	میزبان	کشور
Row	Virus isolate	Number	Host	Country
1	<i>Bean common mosaic virus</i>	MW534342	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Zambia
2	<i>Bean common mosaic virus</i>	MW534344	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Zambia
3	<i>Bean common mosaic virus</i>	MW534353	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Zambia
4	<i>Bean common mosaic virus</i>	MW534346	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Zambia
5	<i>Bean common mosaic virus</i>	MW534343	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Zambia
6	<i>Bean common mosaic virus</i>	MW534347	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Zambia
7	<i>Bean common mosaic virus</i>	MW534345	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Zambia
8	<i>Bean common mosaic virus</i>	MW534341	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Zambia
9	<i>Bean common mosaic virus</i>	LC458615	<i>Dolichos lablab</i>	India
10	<i>Bean common mosaic virus</i>	MK431152	<i>Vigna unguiculata</i>	Brazil
11	<i>Bean common mosaic virus</i>	MK431153	<i>Vigna unguiculata</i>	Brazil
12	<i>Bean common mosaic virus</i>	LC458616	<i>Dolichos lablab</i>	India
13	<i>Bean common mosaic virus</i>	AJ429522	<i>Vanilla tahitensis</i> J.W. Moore	French Polynesia
14	<i>Bean common mosaic virus</i>	AJ429523	<i>Vanilla tahitensis</i> J.W. Moore	French Polynesia
15	<i>Bean common mosaic virus</i>	KC969187	<i>common bean</i>	Iran
16	<i>Bean common mosaic virus</i>	KC702889	<i>Phaseolus vulgaris</i> cv. <i>Red kidney</i>	Iran: Fars,
17	<i>Bean common mosaic virus</i>	KC702887	<i>Phaseolus vulgaris</i> cv. <i>Red kidney</i>	Iran: Fars,
18	<i>Bean common mosaic virus</i>	KC702888	<i>Phaseolus vulgaris</i> cv. <i>Red kidney</i>	Iran: Lorestan
19	<i>Bean common mosaic virus</i>	OL614989	<i>Crotalaria juncea</i>	Brazil
20	<i>Bean common mosaic virus</i>	KC969186	<i>common bean</i>	Iran
21	<i>Bean common mosaic virus</i>	KC969192	<i>common bean</i>	Iran
22	<i>Bean common mosaic virus</i>	KC969191	<i>common bean</i>	Iran
23	<i>Bean common mosaic virus</i>	KC702885	<i>Phaseolus vulgaris</i> cv. <i>Red kidney</i>	Iran: Zanjan
24	<i>Bean common mosaic virus</i>	KC702886	<i>Phaseolus vulgaris</i> cv. <i>Red kidney</i>	Iran: Ahvaz
25	<i>Bean common mosaic virus</i>	KC969188	<i>common bean</i>	Iran
26	<i>Bean common mosaic virus</i>	KC969189	<i>common bean</i>	Iran
27	<i>Bean common mosaic virus</i>	KC969190	<i>common bean</i>	Iran
28	<i>Bean common mosaic virus</i>	KC702884	<i>Phaseolus vulgaris</i> cv. <i>Red kidney</i>	Iran: Fars,
29	<i>Potato virus Y</i>	MW700084	<i>Physalis peruviana</i>	Brazil



شکل ۳. درخت تبارزایی رسم شده بر اساس ترادف نوکلئوتیدی ژن پروتئین پوششی جدایه های ویروس موزائیک معمولی لوبیا مربوط به سه جدایه زعفران و جدایه های موجود در بانک ژن با استفاده از نرم افزار MEGA۶ و روش Maximum likelihood.

Fig 3. The phylogeny tree drawn based on the nucleotide synonym of the protein coat gene of common bean mosaic virus isolates related to the three saffron isolates and the isolates in the gene bank using 6 MEGA software and the Maximum likelihood method.



شکل ۴. مقایسه درصد همولوژی نوکلئوتیدی پروتئین پوششی سه جدایه ایرانی (B1، B2 و B3) و جدایه های موجود در بانک ژن به روش Clustal W با برنامه SDTV.

Fig 4. Comparison of nucleotide homology percentage of coat protein of three Iranian isolates (B1, B2 and B3) and isolates available in gene bank using Clustal W method with SDTV program.

نتیجه گیری

دهند. همچنین فعالیت ناقل شته ای در مناطق مختلف، روی میزان آلودگی و موفقیت آن اثر گذار است. اگر علف های هرز ویژه ای نیز به عنوان میزبان مناسب شته ها شناخته شوند، این موضوع نیز میتواند جهت ریشه کنی یا سمپاشی با حشره کش موثر باشد تا در طی فصل از طریق شته ها روی گیاه اصلی منتقل نشود. دلیل جدا شدن سه جدایه این تحقیق و قرار گیری آن در دو گروه می تواند به دلیل تغییرات صورت گرفته در

در این تحقیق به ردیابی و بررسی تبارزایی ویروس موزائیک معمولی لوبیا بر روی گیاه زعفران در استان خراسان رضوی شهرستان خواف و پراکنش نسبی آن پرداخته شده است و همچنین احتمال اینکه بعضی از علف های هرز مزارع زعفران به این ویروس نیز آلودگی باشند هست که ناقلین می توانند با فعالیت خود در طی فصل پاییز و بهار، ویروس را بر روی گیاه زعفران انتقال

احتمال می رود به سایر ویروس های آلوده زعفران که نیاز به بررسی بیشتری دارد آلوده باشند. بر اساس نتایج این تحقیق آلودگی طبیعی این ویروس برای اولین بار بر روی زعفران ردیابی می شود گیاه زعفران دارای اهمیت اقتصادی بسیار بالا بوده و نقش مهمی در اقتصاد ایران بازی می کند. بنابراین بررسی عوامل خسارتزای آن حائز اهمیت است.

سطح آمینو اسیدی و نوترکیبی این جدایه ها باشد. از طرف دیگر نوترکیبی که نقش زیادی در تکامل و سازگاری ویروس بازی می کند (کرک ماز، ۲۰۰۸). بنابراین بروز نوترکیبی در سه جدایه ایرانی این تحقیق، در حین سازگاری با میزبان جدید محتمل است. علیرغم اینکه علائم ویروسی در بسیاری از نمونه ها قابل مشاهده بود اما آلودگی به ویروس مذکور در آن ها گزارش نشد و

منابع

- Agrios, G. (2005) Plant Pathology. 5th edn. London: Elsevier Academic Press. pp 845-847.
- Bradran, Gh. & Jafarpour, B. (1998). *Investigating the presence of normal bean mosaic virus and cucumber mosaic virus in bean fields in Mashhad and Chenaran region*. The 13th Congress of Medicinal Plants of Iran-Karaj, 1-5; 163-157.
- Drijfhout, E. (1991). *Bean common mosaic virus*. In: Compendium of Bean Diseases, Hall, R., Led. APS Press, USA. p. 37-39.
- Farokhvand, S., Hosseini, S.A., Salari, K. & Aminifard, M.H., (2019). Serological and molecular detection of Tomato spotted wilt virus on some weed reservoirs of saffron fields. *Journal of Saffron Research*, 6 (2): 167-177.
- Grilli Caiola, M. & Faoro, F. (2011). Latent virus infections in *Crocus sativus* and *Crocus cartwrightianus*. *Phytopathologia Mediterranea*, 50, 175-182.
- Hammami, A. & Hosseini, S.A., (2023). Detection and molecular investigation of Cucumber mosaic virus in saffron fields in Boshruye city. *Journal of Saffron Research*. 11 (2): 314-327.
- Karbasi, A. (2016). *Economic and social analysis of saffron cultivation in Torbat Heydarieh city*. The second vision conference of Torbet Heydarieh region in 1404 horizon, Torbet Heydarieh University, Iran.
- King, A. M. Q., Adams, M. J., Carestens, E. B. & Lefkowitz, E. J., (2012). Virus taxonomy classification and nomenclature of viruses. Ninth report of the international committee on taxonomy of viruses. ELSEVIER , 1327 pp.
- Kochaki, A.R., Karbasi, A.R. & Sidi, S.M. (2015). Investigating some reasons for the decrease in saffron yield during the last 93 years. *Saffron Agriculture and Technology*, 5(2): 107-122.
- Muhire, B. M., Varsani, A. & Martin, D. P. (2014). SDT: A virus classification tool based on pairwise sequence alignment and identity calculation. *PloS one*, 9, 1-8.
- Najafi, G. (1969). Breed of bean mosaic virus in Iran and study about it. *Journal of Plant Diseases*, 5, 124-133.
- Pembari, M., Kohi Habibi, M., Musahebi, G. & Izad Panah, K. (2011). Investigating common bean mosaic virus (BCMV) in several provinces of the country and three bean genotypes. *Bulletin of plant protection*, 25(3), 257-250.
- Salari, N., Saidmusavi, M., Shahrain, N., Ghorbani, Sh. & Maleki, M. (2013). Identification and diagnosis of common bean mosaic virus and common necrotic mosaic virus of bean using Immunocapture RT-PCR method. *New Journal of Cell-Molecular Biotechnology*. 3, 11.
- Shahrain, N., Hosni Mehraban, A., Purdavai, H., Beizai, A., Doud, M. & Benanj, K. (2001). Determining genetic sources of resistance to the three important bean viruses BCMNV, BYMV and BCMV, Khomein and Borujerd station research project, published by the Agricultural Research, Education and Promotion Organization.
- Silbernagel, M. J., Mink, G. I., Zhao, R. L. & Zheng, G. Y. (2001). Phenotypic recombination between bean common mosaic and bean common mosaic necrosis potyviruses in vivo. *Archives of Virology*, 146, 1007-1020.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A. & Kumar, S. (2013). MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Boil Evolution*, 30, 2725-2729.
- Tavoosi, M., Hosseini & S.A., 2022. Molecular detection and Investigation of irish severe mosaic virus in saffron fields of Razavi and South Khorasan. *Journal of Saffron Research*, 9 (2) : 323-334.
- Thompson, J. D., Higgins, D. G. & Gibson, T. J. (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight

- matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22 (22), 4673–4680.
- Walkey, D. G. A. & Webb, M. J. W. (1982). Internal necrosis in stored white cabbage caused by *Turnip mosaic virus*. *Annals of Applied Biology*, 89(3), 435-441.
- Walkey, D. G. A. (1968). The production of virus-free rhubarb by apical tip-culture. *Journal of Horticultural Science*, 43(3), 283-287.