مقاله علمی پژوهشی
مجله دوفصل نامه
مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی
ISSN 2588-5073 چاپی
ISSN 2588-5081 الکترونیکی
دوره ۱۲، شماره ۲، پاییز و زمستان ۱۴۰۲
صفحه ۲۵۰-۲۴۱
10.61186/gebsj.12.2.241

ردیابی و تحلیل تبارزائی ویروس کوتولگی گوجه (*Prune dwarf virus*) از درختان گیلاس استان خراسان رضوی

Detection and genetic analysis of *Prune dwarf virus* from cherry trees in Razavi Khorasan province

سارا قارونی کاردانی[1*]، ابراهیم گنجی مقدم [2]، شادی عطار [3] و منصور صلاتی [1]

Sara Gharouni-Kardani[1*], Ebrahim Ganji Moghadam[2], Shadi Attar [3] and Mansour salati[1]

۱- بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، ۲- بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی،
مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران
۳- دانش آموخته دکتری، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران

1- Plant Protection Research Department, 2- Department of crop and horticulture science Research, Khorasan Razavi, Agricultural and natural resources research and education center AREEO, Mashhad, Iran.
3- Former PhD student, Horticultural science department, Agriculture faculty, Ferdowsi university of Mashhad, Iran
* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: *Corresponding Author, Email
s.gharooni@areeo.ac.ir
(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۶/۲۲ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۲۴)
Received: 2023/09/13 | Accepted: 2024/03/14 | Published: 2024/03/18

Research Article
Genetic Engineering and Biosafety Journal 2024
Volume 12, Number 2, Pages: 241-250

http://gebsj.ir/

https://ecc.isc.ac/showJournal/23064

چکیده

ویروس کوتولگی گوجه (*Prune dwarf virus*, PDV) به‌عنوان یک عامل بیماری‌زا مهم در درختان گیلاس (*Prunus avium* L.)، شناخته شده است و خسارت جدی به درختان هسته‌دار می‌رساند. در بهار سال ۱۴۰۱ نمونه‌برداری از مجموعه درختان باغ گیلاس ایستگاه تحقیقات گلمکان مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، انجام شد. نمونه‌های جمع‌آوری‌شده دارای علائم کوتولگی، میوه‌های لکه‌دار، کاهش رشد جوانه‌ها بودند و فاصله‌ی میانگره‌های شاخه نسبت به گیاهان سالم کمتر بود. برای ردیابی ویروس از آزمون رونویسی معکوس با پرایمرهای اختصاصی مبتنی بر ژن پروتئین حرکتی ویروس استفاده شد. قطعات ۷۵۶ نوکلئوتیدی حاصل از الکتروفورز تکثیر شده پس از خالص‌سازی، ایزوله گلمکان توالی‌یابی شد. ترادف به‌دست‌آمده با استفاده از بلاست در پایگاه NCBI با ترادف‌های موجود در بانک ژن مقایسه شد و بیشترین شباهت با جدایه بلغارستان (MT152176, ۹۹/۷٪) و کمترین شباهت با جدایه هلند (HM021231, ۸۸/۸٪) مشاهده شد. درخت تبارزائی بر پایه پروتئین حرکتی ترسیم شد و جدایه‌های PDV در دو گروه مجزا قرار گرفتند و جدایه گلمکان در گروه I درخت فیلوژنتیک قرار گرفت. مقایسه توالی پروتئین حرکتی جدایه‌های ویروس نشان داد توالی‌های اسیدآمینه پروتئین حرکتی و دامنه اتصال به RNA پروتئین حرکتی در میان ویروس کوتولگی گوجه بسیار حفاظت شده است. در این پژوهش برای اولین بار توالی ویروس کوتولگی گوجه از ایران از باغ گیلاس در ژن‌بانک با رس‌شماره OR541106 ثبت شد و تحلیل تبارزائی ویروس کوتولگی گوجه با تمرکز بر ژن پروتئین حرکتی بررسی شد.

واژه‌های کلیدی

پروتئین حرکتی،
درختان هسته‌دار،
درخت فیلوژنتیک

Gharouni-Kardani S, Ganji Moghadam E, Attar S, Salati M. Detection and genetic analysis of Prune dwarf virus from cherry trees in Razavi Khorasan province. Genetic Engineering and Biosafety Journal 2023; 12 (2) :241-250. Doi: 10.61186/gebsj.12.2.241
URL: http://gebsj.ir/article-1-472-fa.html

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-01]
[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.241]

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 12, Number 2, 2024

Abstract

Prune dwarf virus (PDV) is a significant pathogen in cherry trees (*Prunus avium* L.), causing serious damage to agricultural crops. In spring 2022, samples were collected from cherry orchards in Golmakan, Khorasan Razavi province. The collected samples showed symptoms of dwarfism, spotted fruits, and young shoots with short internodes compared to healthy plants. To detect PDV in these samples, a reverse transcription polymerase chain reaction assay was used with specific primers targeting the movement protein of the virus. The amplified 756-nucleotide fragment was purified and sequenced. The obtained sequence was compared to available sequences in the gene bank using the BLAST tool in NCBI, and the highest similarity was observed with the Bulgarian strain (99.7%, MT152176), while the lowest similarity was observed with the Netherlands strain (88.8%, HM021231). A phylogenetic tree based on the movement protein was constructed, and the PDV strains were classified into two distinct groups, and the Golmakan strain was placed within Group I on the phylogenetic tree. Further comparison of the movement protein sequences among the virus isolates showed that the amino acid sequences of the movement protein and the RNA-binding domain of the movement protein are highly conserved among PDV isolates. In this research, for the first time, the sequence of PDV from Iran was registered in the gene bank (OR541106), originating from a cherry tomato garden. The phylogenetic analysis of PDV was conducted, with a specific focus on the movement protein gene.

Keywords: Movement protein, *Prunus* spp., Phylogenetic tree.

مقدمه

ویروس کوتولگی گوجه (*Prune dwarf virus*, PDV) در زیرگروه ٤ از جنس Ilarvirus، خانواده Bromoviridae طبقه‌بندی می‌شود و دارای ژنوم تک‌رشته‌ای آر.ان.ای با قطبیت مثبت است (Bujarski *et al*. 2019). RNA1 و RNA2 پروتئین‌های مرتبط با در تکثیر ویروس را بیان می‌کنند. پروتئین حرکتی (Movement protein) و پروتئین پوششی (Coat protein) از طریق روش RNA زیر ژنومی از قطعه RNA3 بیان می‌شوند (Bachman *et al*. 1994). این ویروس به‌تنهایی و یا در آلودگی مخلوط با سایر 'گونه‌های جنس Ilarvirus مانند ویروس لکه‌حلقوی نکروتیک هسته‌داران (*Prunus necrotic ringspot virus*, PNRSV) و ویروس موزاییک سیب (*Apple mosaic virus*, ApMV) موجب بروز آلودگی به‌صورت هم‌افزایی می‌شود (Ulubaş-Serçe *et al*. 2009) و منجر به کاهش بازارپسندی و کاهش عملکرد محصول می‌گردد (Simkovich *et al*. 2021). محدوده میزبانی PDV وسیع است و بیشتر گیاهان چوبی چندساله (*Prunus* spp.) شامل: گوجه‌سبز، آلو، زردآلو، هلو و همچنین درختان تزئینی را آلوده می‌کند (Gündoğan *et al*. 2022). PDV به‌راحتی از طریق گرده‌افشانی، بذر و تکثیر رویشی منتقل می‌شود (Mink *et al*. 1993). علائم PDV بسته به شرایط اقلیمی، جدایه‌های ویروس، گونه میزبان و رقم متفاوت هستند و می‌تواند بدون علائم تا زردی برگ و میوه، لکه‌های نکروز برگ در آلبالو، لکه حلقوی کلروتیک، زردی و ترک‌خوردگی میوه در گیلاس، کوتولگی، تغییر شکل برگ و کاهش اندازه میوه در هلو، زردآلو و آلو متفاوت باشد (Fonseca *et al*. 2005; Nemeth, 1986).

جدایه‌های PDV در شدت آلودگی، از لحاظ تست‌های سرولوژیکی، توالی نوکلئوتیدی RNA3 و همچنین توالی اسیدآمینه پروتئین پوششی و پروتئین حرکتی بسیار متنوع هستند (Vaskova *et al*. 2000; Waterworth and Fulton, 1964; Koziel *et al*. 2015; Ulubaş-Serçe *et al*. Fonseca *et al*. 2005; 2009). بنابر مطالعات انجام‌شده، MP نقش حیاتی در فرآیند آلودگی سیستمیک ویروس PDV را بازی می‌کند، زیرا وظیفه فراهم کردن حرکت ویروس در داخل گیاه میزبان را بر عهده دارد (Predajňa *et al*. 2017). پروتئین‌های حرکتی این خانواده دارای

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-01]
[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.241]

دومین آب‌دوست هستند (Melcher, 2000). این موتیف در خانواده *Bromoviridae* بسیار حفاظت شده است (Codoner *et al*. 2005) و دارای دامنه اتصال به RNA (RNA-binding domain) در محدوده اسیدآمینه ٥٦ تا ٨٥ هستند (Herranz and Pallas, 2004). این دامنه در انتقال RNA ویروس نقش دارد (Fiore *et al*. 2008).

PDV از مناطق مختلف جهان، ازجمله کانادا (Simkovich *et al*. 2021)، ترکیه (Ulubaş Serçe *et al*. 2009)، مجارستان (Nemeth *et al*. 2010)، استرالیا (Mekuria *et al*. 2003)، چین (Zhao *et al*. 2009) و منطقه شرقی دریای مدیترانه (Gündoğan *et al*. 2022) ردیابی و گزارش شده است. در مطالعات مرتبط با تحلیل فیلوژنتیکی ژنوم RNA3 جدایه‌های PDV، تنوع ژنتیکی قابل توجهی گزارش شده است (Vaskova *et al*. 2000; Ulubaş Serçe *et al*. 2009; Predajňa *et al*. 2017; Kamenova and Borisova, 2022; Bonilla and Cieniewicz, 2022).

در ایران، PDV از جمله مهم‌ترین ویروس‌های درختان میوه هسته‌دار باغات استان گلستان شناخته شد (Fallah *et al*. 2008). در باغات میوه استان چهارمحال و بختیاری، PDV با علائم باریک شدن برگ، زردی برگ، بدشکلی رگبرگ‌ها، موزاییک، سفید شدن برگ، کپه‌ای شدن شاخه‌ها و کوتولگی درختان شناسایی شده است. این اولین گزارش از PDV در باغ‌های میوه استان چهارمحال و بختیاری در ایران بود (Soltani *et al*. 2013). به‌منظور تعیین پراکنش و ردیابی ویروس کوتولگی گوجه در باغ‌های درختان هسته‌دار استان فارس از نمونه‌های برگی با علائم پیچیدگی، بدشکلی، پارگی برگ و موزاییک از درختان هلو، آلو، زردآلو و بادام جمع‌آوری گردید. نتایج آزمون الایزا نشان داد که تقریبا تمام باغات استان به این ویروس آلوده هستند. در این بررسی شلیل برای اولین بار از ایران به‌عنوان میزبان گزارش گردید (Hasanpour *et al*. 2018).

شناسایی، شیوع و تأثیر PDV بر درختان میوه با استفاده از روش‌های مختلف شناسایی، مورد بررسی قرارگرفته است. بررسی و مطالعه‌ی شیوع و تنوع ژنتیکی ژن MP ویروس PDV برای توسعه راهکارهای مؤثر جهت مدیریت و کنترل گسترش ویروس ضروری است و درنهایت منجر به حفاظت از درختان میوه و حفظ بهره‌وری آن‌ها می‌شود. هدف از مطالعه حاضر افزایش دانش علمی در مورد تنوع PDV در گیلاس در استان خراسان رضوی است. در این مطالعه ویروس کوتولگی گوجه از درختان گیلاس گلمکان ردیابی و پروتئین حرکتی ویروس توالی‌یابی شد. همچنین رابطه فیلوژنی این جدایه با سایر جدایه‌های PDV موجود در Gene Bank تحلیل شده است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری: در بهار سال ١٤٠١ نمونه‌برداری از برگ‌های ١٨ درخت کلکسیون درختان باغ گیلاس ایستگاه تحقیقات گلمکان مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی انجام شد. نمونه‌های جمع‌آوری‌شده در مقایسه با سایر درختان دارای علائم کوتولگی، میوه‌های لکه‌دار، زردی، کاهش رشد جوانه‌ها و کاهش فواصل میانگره‌ها بودند.

استخراج ژنوم ویروس: برای استخراج آر. ان. ای کل از بافت‌های برگ و دمبرگ، از روش بهینه‌سازی شده CTAB-PVPP برای استخراج ماده ژنتیکی گیلاس استفاده شد (Gholampour and Zakiaghl, 2016). به‌منظور ارزیابی کیفیت RNA استخراج‌شده، از اسپکتروفتومتر نانودراپ مدل (Thermoscientific nanodrop 2000c) و الکتروفورز در ژل آگارز استفاده شد.

سنتز رشته مکمل (cDNA): برای سنتز رشته مکمل، برای هر نمونه از آر. ان. ای کل، ٤ میکرولیتر آن را با ٢ میکرولیتر آغازگر معکوس (با غلظت ١٠ پیکومول) و ٧ میکرولیتر آب دیونیزه ترکیب شد. میکروتیوب‌ها را به مدت ١٠ دقیقه در دمای ٦٠ درجه سانتی‌گراد گرم شد و سپس ١ دقیقه روی یخ قرار داده شدند. پس از این گام، ٢ میکرولیتر مخلوط dNTPs با غلظت ٢٥ میلی‌مولار، ٤ میکرولیتر بافر واکنش ٥X و ١ میکرولیتر آنزیم نسخه‌بردار معکوس (Reverse Transcriptase, RevertAid Fermentas, 1000 U) به مخلوط اضافه شد. سپس میکروتیوب‌ها را به مدت ١٠ دقیقه در دمای ٢٥ درجه سلسیوس نگه‌داشته شدند و سپس تیوب‌ها با حجم ٢٠ میکرولیتر، به مدت ٦٠ دقیقه در دمای ٤٧ درجه سانتی‌گراد در ترموسایکلر قرار داده شد.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-01]
[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.241]

واکنش زنجیره‌ای پلی مراز (PCR): برای ساخت قسمتی از ژن پروتئین حرکتی از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز استفاده شد. در یک میکروتیوب، ۷/۵ میکرولیتر از مسترمیکس (Ampliqon *Taq* DNA Polymerase Master Mix RED, Denmark)، ۰/۵ میکرولیتر آغازگر مستقیم اختصاصی، ۰/۵ میکرولیتر آغازگر معکوس اختصاصی با توالی‌های مشخص و غلظت ۱۰ پیکومول (که در جدول ۱ آمده است) و ۵/۵ میکرولیتر آب مقطر استریل ترکیب شد. سپس ۱ میکرولیتر از cDNA هر نمونه را به لوله مورد نظر منتقل و حجم نهایی ۱۵ میکرولیتر شد.

جدول ۱– مشخصات آغازگرهای اختصاصی PDV استفاده‌شده در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز جهت تکثیر قسمتی از پروتئین حرکتی

Table 1. Specifications of the specific PDV primers used in the polymerase chain reaction for amplifying a portion of the Movement Protein

Name of the primer	sequence	References	position on the genome	Size
PDV-F1	5’- AGTTTCCGCTGAAGATTGG -3’	Predajňa *et al.* 2017	331– 350	756 bp
PDV-R1	5’- ACAGACTCGGCTTCCTTGA -3’	Predajňa *et al.* 2017	1067-1086	

پروفایل دمایی واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز شامل یک چرخه در دمای ۹٤ سلسیوس به مدت ۳ دقیقه و ۳۵ چرخه شامل، ۹٤ درجه به مدت ۳۰ ثانیه در مرحله واسرشت سازی، ۵۵ درجه به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه به مدت ۹۰ ثانیه و درنهایت یک سیکل ۷۲ درجه به مدت ۵ دقیقه با استفاده از ترموسایکلر (Bio-Rad MJ Mini Thermal Cycler, USA) انجام گردید.

قطعات حاصل از تکثیر ژن MP در ژل آگارز ۱ درصد دارای ۲ میکرولیتر از Green viewer (پارس توس- ایران) الکتروفورز و درنهایت در دستگاه ژل داک (Alphaimager Mini ProteinSimple, USA) عکس‌برداری شد.

تعیین توالی و بررسی‌های تبارزایی ویروس: محصول PCR مورد نظر از روی ژل جداشده و با استفاده از کیت استخراج از ژل (GeNet Bio, Korea, Cat No: K-8000K-8000)، از ژل آگارز خالص‌سازی شد. جدایه‌ها سپس برای تعیین توالی با آغازگر مستقیم اختصاصی به شرکت ماکروژن کره ارسال گردید.

ویرایش توالی‌های حاصل از توالی یابی با استفاده از نرم‌افزار Geneious Prime (Version 2019.1.3) (Biomatters, Auckland, New Zealand, 2019)، انجام شد. توالی حاصله در پایگاه داده GenBank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov) با استفاده از BLASTn بررسی شد و در نهایت، درخت تبارزایی برای جدایه تعیین توالی شده و ٤۷ جدایه انتخابی از ویروس کوتولگی گوجه از ژن‌بانک با استفاده از نرم‌افزار MEGA7 پس از زیر هم چینی جدایه‌ها با MUSCLE و انتخاب بهترین مدل به روش (Maximum-Likelihood) با مقادیر بوت‌استراپ ۱۰۰۰ تکرار رسم شد (kumar *et al.* 2016). تجزیه‌وتحلیل تشابه توالی نوکلئوتیدی پروتئین حرکتی بین جدایه این تحقیق و ژن‌بانک با استفاده از نرم‌افزار SDT v1.2 انجام شد (Muhire *et al.* 2014). توالی‌های هم‌ردیف شده آمینواسیدی جهت یافتن موتیف‌های حفاظت شده، با وب‌سایت وب‌لوگو (http://weblogo.berkeley.edu/logo.cgi) تجزیه و تحلیل شد (Crooks *et al.* 2004).

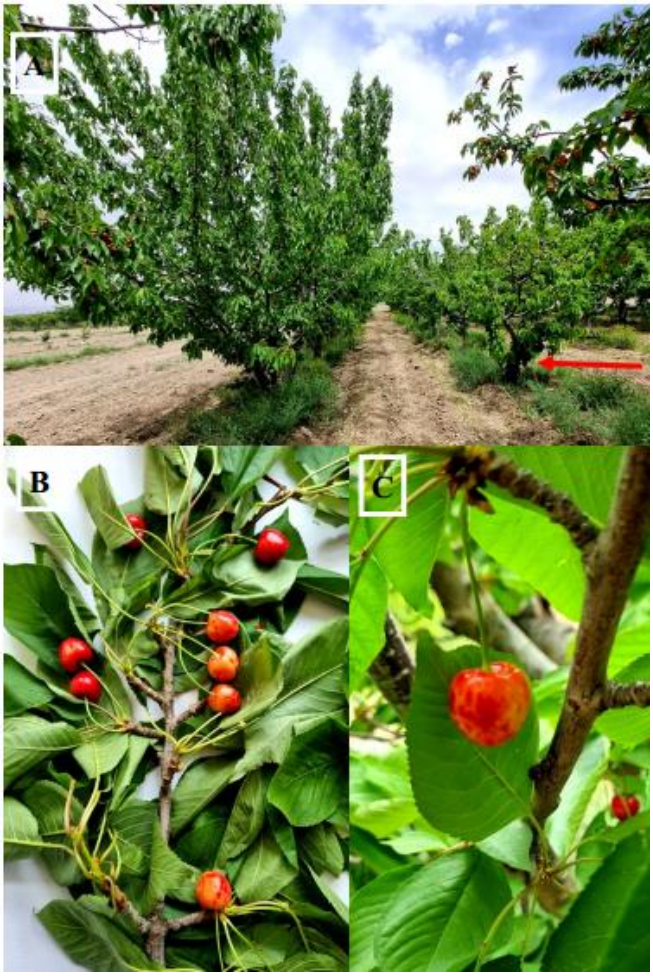
نتایج و بحث

نتایج نمونه‌برداری

از میان ۱۸ درخت نمونه‌برداری شده از کلکسیون باغ گیلاس، با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز معکوس (RT-PCR) و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی برای پروتئین حرکتی PDV، تعداد پنج نمونه آلوده شناسایی شدند. در نمونه‌هایی که آلودگی آن‌ها اثبات گردید، علائمی نظیر کوتولگی درختان (شکل بالا 1A، درخت سمت راست که با فلش قرمز نشان داده شده است در مقایسه با درخت سمت چپ که آلوده نبود دارای علائم کوتولگی و فاصله‌ی میانگره‌های شاخه نسبت به درختان سالم کمتر بود) و لکه‌های قرمز بر میوه‌های در حال رسیدن مشاهده شد (شکل 1B و 1C).

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-01]

[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.241]

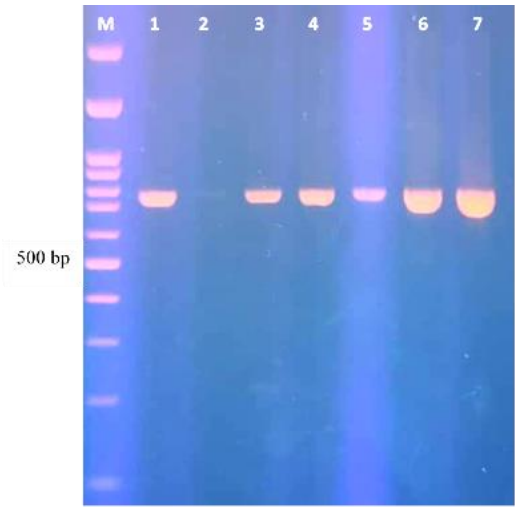


شکل ۱- علائم مشاهده شده در نمونه‌های آلوده به PDV در باغ گیلاس ایستگاه گلمکان، استان خراسان رضوی شامل کوتولگی درختان (شکل بالا A) و لکه‌های قرمز بر میوه‌های در حال رسیدن (B و C)

Fig 1. The viral symptoms observed in samples infected with PDV in the cherry Golmakan orchard, Razavi Khorasan province, include tree stunting (left) and red spots on ripening fruits (right).

نتایج مربوط به الکتروفورز محصولات پی سی آر

در واکنش RT-PCR با استفاده از جفت آغازگر اختصاصی PDV-F1/PDV-R1، قطعه‌ای به طول ۷۵٦ جفت باز تکثیر شد درحالی‌که از گیاهان کنترل (گیاهان سالم) هیچ قطعه‌ای تکثیر نشد. نتیجه این تکثیر روی ژل آگارز ۱ درصد مشاهده شد که در شکل ۲ قابل‌رؤیت است. پس از توالی‌یابی و انجام هم‌ردیف سازی چندگانه با استفاده از نرم‌افزار MAFFT (Katoh *et al.* 2019)، تحلیل‌های مولکولی انجام شد.



شکل ۲- الکتروفورز محصول RT-PCR در ژل آگارز یک درصد با جفت آغازگر اختصاصی (PDV-F1/ PDV-R1). M نشانگر مولکولی (۱۰۰ bp, Fermentas). راهک ۱ شاهد مثبت، راهک ۲ شاهد منفی. راهک ۳ تا ۷ نمونه‌های آلوده به PDV.

Fig 2. Results of RT-PCR using PDV specific primers (PDV-F1/ PDV-R1). M DNA ladder (100bp, Fermentas), Lane 1 positive control, Lane 2 negative control. Lane 3-7 PDV infected samples.

بررسی‌های تبارزایی

پس از مقایسه توالی خام با استفاده از برنامه BLAST موجود در پایگاه اطلاعاتی NCBI و تائید وجود آلودگی ویروس کوتولگی گوجه، توالی توسط نرم‌افزار MEGA7 ویرایش شد و توالی به‌دست‌آمده در ژن‌بانک با رس شماره OR541106 ثبت شد (جدول ۲).

ایزوله گلمکان با جدایه IZD3 بلغارستان (MT152176) در سطح نوکلئوتیدی ۹۹,۷٪ و در سطح آمینواسیدی ۱۰۰٪ مشابه بودند و کمترین شباهت در سطح نوکلئوتیدی با ایزوله SWRegina هلند (HM021231, ۸۸,۸٪) و در سطح آمینواسیدی با جدایه 328C از اسلواکی (KU949368, ۹۳,۱٪) داشت (شکل ۳).

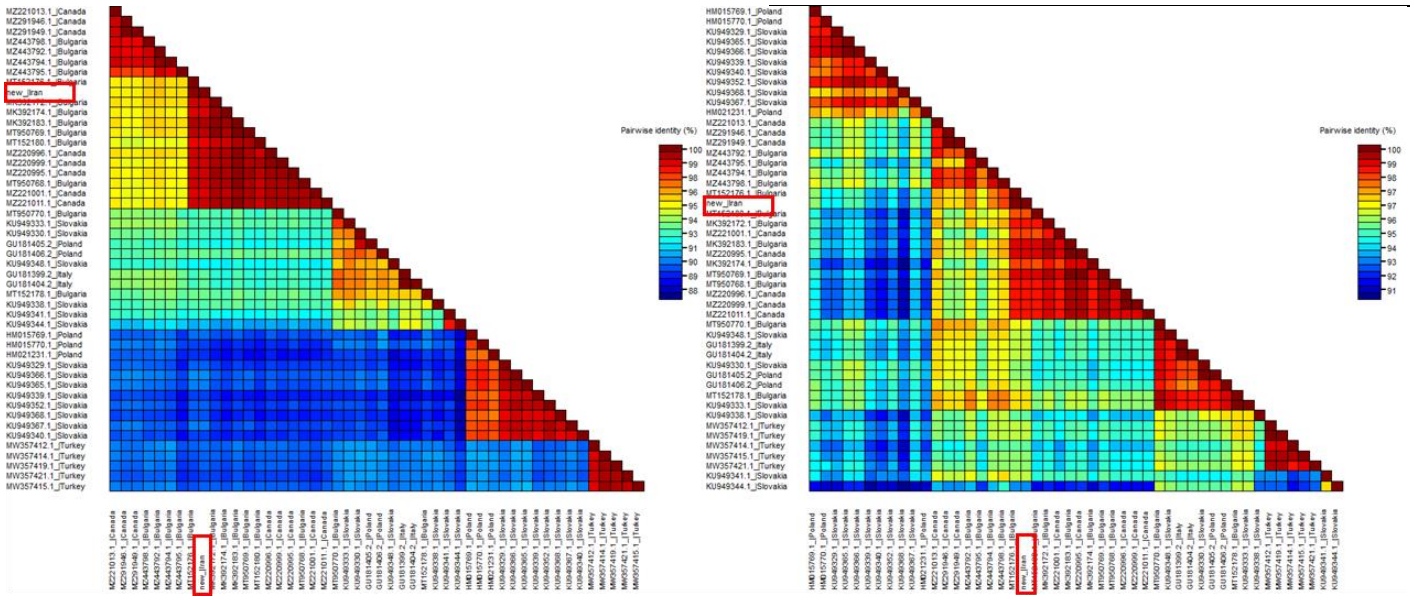
در درخت تبارزایی ترسیم شده بر اساس بهترین مدل انتخاب شده توسط MEGA7، دو گروه مجزا از هم I و II با مقدار بوت استرپ بالا پشتیبانی شدند (شکل ٤).

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-01]
[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.241]

جدول ۲- شماره توالی‌های جدایه‌های PDV ثبت شده در NCBI. (جدایه توالی یابی شده در تحقیق حاضر با علامت ❋ مشخص شده است).

Table 2. Accession numbers of PDV sequences identified in NCBI (Recorded sequences in this study showed by ❋).

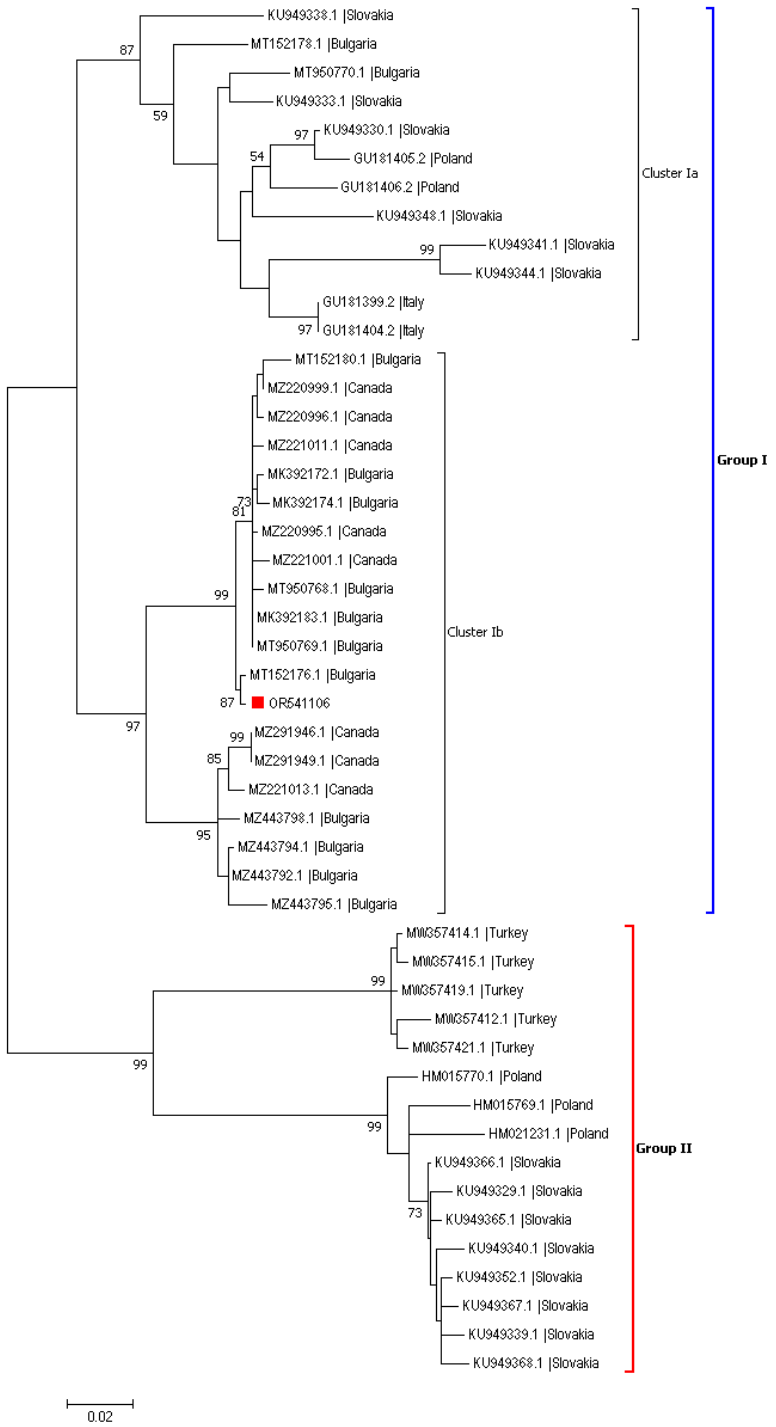
Accession no.	origin	isolate	Host
GU181399.2	Italy	SOF17P17	*Prunus cerasus*
GU181404.2	Italy	SOF15P11	*P. cerasus*
GU181405.2	Poland	PA63	*P. avium*
GU181406.2	Poland	SWM1	*P. avium*
HM015769.1	Poland	0917	*P. avium*
HM015770.1	Poland	0599	*P. domestica*
HM021231.1	Poland	SWRegina	*P. avium*
KU949329.1	Slovakia	01C	*P. avium*
KU949330.1	Slovakia	06C	*P. avium*
KU949333.1	Slovakia	1016C	*P. avium*
KU949338.1	Slovakia	1048C	*P. avium*
KU949339.1	Slovakia	1060C	*P. avium*
KU949340.1	Slovakia	1063C	*P. avium*
KU949341.1	Slovakia	1065C	*P. avium*
KU949344.1	Slovakia	16C	*P. avium*
KU949348.1	Slovakia	307C	*P. avium*
KU949352.1	Slovakia	326C	*P. avium*
KU949365.1	Slovakia	302C	*P. avium*
KU949366.1	Slovakia	304C	*P. avium*
KU949367.1	Slovakia	309C	*P. avium*
KU949368.1	Slovakia	328C	*P. avium*
MK392172.1	Bulgaria	Iv2-1	*P. avium*
MK392174.1	Bulgaria	Iv50-8	*P. avium*
MK392183.1	Bulgaria	P113	*P. avium*
MT152176.1	Bulgaria	IZD3	*P. avium*
MT152178.1	Bulgaria	IZD4	*P. avium*
MT152180.1	Bulgaria	IZD5	*P. avium*
MT950768.1	Bulgaria	IZD12	*P. avium*
MT950769.1	Bulgaria	IZD13	*P. avium*
MT950770.1	Bulgaria	IZD14	*P. avium*
MW357412.1	Turkey	Badem58	*P. dulcis*
MW357414.1	Turkey	Badem70	*P. dulcis*
MW357415.1	Turkey	Badem73	*P. dulcis*
MW357419.1	Turkey	Badem97	*P. dulcis*
MW357421.1	Turkey	Badem100	*P. dulcis*
MZ220995.1	Canada	13C208	*P. avium*
MZ220996.1	Canada	13C222	*P. avium*
MZ220999.1	Canada	13C230	*P. avium*
MZ221001.1	Canada	13C234	*P. avium*
MZ221011.1	Canada	13TF115	*P. avium*
MZ221013.1	Canada	13TF132	*P. avium*
MZ291946.1	Canada	19SP057	*Prunus*
MZ291949.1	Canada	19SP058	*Prunus*
MZ443792.1	Bulgaria	ABG2	*P. mahaleb*
MZ443794.1	Bulgaria	Kriv8	*P. cerasus*
MZ443795.1	Bulgaria	Jin38	*P. avium*
MZ443798.1	Bulgaria	Oresh43	*P. avium*
OR541106*	**Iran**	**Golmakan**	***P. avium***



شکل ۳- ماتریکس مقایسه دوبه‌دو ترادف‌های نوکلئوتیدی (سمت چپ) و آمینواسیدی (سمت راست) بخشی از ژن MP جدایه ‘گلمکان (حلقه قرمز رنگ) با ٤٧ جدایه منتخب از بانک ژن با استفاده از نرم‌افزار SDT V1.2.

Fig 3. Pair-by-pair comparison matrix of partial mp sequence of one Iranian isolates (red circle) with 47 selected isolates from gene bank using sdt v1.2 software.

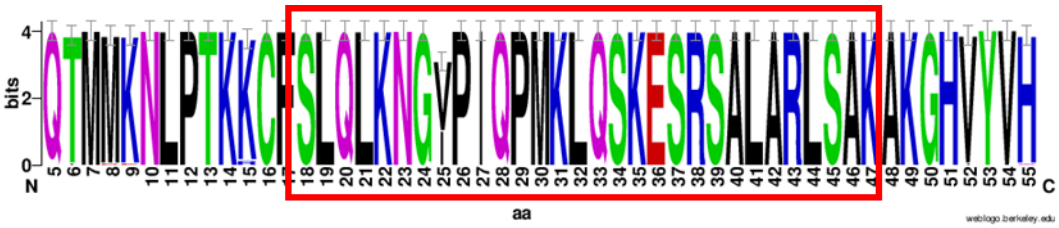
[Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-01]
[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.241]



شکل ٤- درخت تبارزائی جدایه‌های PDV بر اساس توالی‌های نوکلئوتیدی قسمتی از ژن MP (۷۵٦ جفت باز) با استفاده از نرم‌افزار MEGA7 بازسازی شد. مقادیر بوت‌استراپ (۱۰۰۰ تکرار) بر شاخه‌ها نشان داده شده است. مقادیر بوت‌استراپ کمتر از ۵۰ نمایش داده نشده‌اند. ایزوله ایرانی PDV توالی‌یابی شده در تحقیق حاضر به رنگ قرمز نشان داده شده است.

Fig 4. ML phylogenetic tree of partial MP sequences using MEGA7 software (756bp), rooted by a PDV isolate. Bootstrap values (1000 replicates) are shown on the branches. Bootstrap values less than 50 are not displayed. Iranian PDV strain sequenced in this study is highlighted in red.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-01]
[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.241]



شکل ۵- نمایش هم‌ردیف سازی قسمتی از توالی پروتئین MP جدایه‌های PDV توسط WEBLOGO

Fig 5. Weblogo depicting the multiple sequence alignment of the partial MP sequences of the PDV isolates

گروه I بزرگ‌تر از گروه II بوده و به ترتیب شامل ۳۲ و ۱۶ جدایه می‌شوند. گروه I شامل جدایه‌هایی از هلند (۲ جدایه)، ایتالیا (۲ جدایه)، اسلواکی (٦ جدایه)، بلغارستان (۱۳ جدایه) و کانادا (۸ جدایه) است. این گروه شامل ۲ زیرگروه IA و IB است. جدایه گلمکان در زیرگروه IB قرار گرفت. گروه II نیز شامل جدایه‌های ترکیه (۵ جدایه)، هلند (۳ جدایه) و اسلواکی (۸ جدایه) است. تحلیل‌های هم‌ردیف‌سازی توالی پروتئینی از دامنه اتصال به RNA به طول ۲۹ اسیدآمینه نشان داد که در بخش N-ترمینال این پروتئین اسیدآمینه‌های حفاظت شده قابل‌توجهی وجود دارد (شکل ۵).

بیماری‌های ویروسی در درختان میوه هسته‌دار به دلیل پراکنش وسیع و اهمیت اقتصادی بالا، نگران‌کننده هستند. شناسایی سریع و دقیق ویروس‌ها در کنترل بیماری‌های ویروسی، ردیابی منشا آلودگی و بررسی تاثیر بیماری‌ها بر درختان آلوده موثر است. با این حال، شناسایی ویروس‌ها در درختان میوه هسته‌دار، به دلیل تنوع ژنتیکی بالای ویروس‌ها، حضور نهفته آن‌ها و یا توزیع ناهمگون در میزبان می‌تواند دشوار باشد (RAVELONANDRO, 2021). مطالعه حاضر بر شناسایی و توصیف مولکولی جدایه ویروس PDV در گونه گیلاس گلمکان تمرکز داشت. علائم بیماری ایجادشده توسط ویروس PDV در درختان به‌صورت لکه‌های زرد/کلروتیک و لکه‌های قرمز بر میوه‌های رسیده، کوتولگی درختان بود. علائم ایجاد شده توسط ویروس PDV در گیلاس می‌تواند به‌صورت حلقه‌های کلروتیک، درجات مختلفی از نکروز و کوتولگی ظاهر شود و نیز ممکن است درختان آلوده اغلب بدون علامت باقی بمانند (MASSART *ET AL.* 2008). جدایه‌های مختلف ویروس PDV می‌تواند علائم مختلفی را در یک میزبان ایجاد کند (KOZIEL *ET AL.* 2017) که در هنگام مطالعه ویروس و توسعه روش‌های تشخیص و کنترل باید مدنظر قرار داد.

مشابه نتایج مطالعات گذشته (PREDAJNA *ET AL.* 2017; CHIRKOV *ET AL.* 2023)، تحلیل تبارزایی جدایه‌های PDV از میزبان‌های مختلف و مناطق جغرافیای متفاوت موجود در ژن‌بانک و جدایه ایرانی گلمکان، امکان حذف احتمال تأثیر میزبان‌های مختلف بر تنوع ژنتیکی جدایه‌های PDV را فراهم کرد زیرا در درخت فیلوژنتیکی رسم شده، ویروس‌های جداشده از میزبان‌های متفاوت در کنار یکدیگر قرار گرفتند و شاخه مجزایی بر اساس میزبان تشکیل ندادند. هیبریداسیون آسان بین گونه‌های هسته‌داران در انتقال بالقوه بین‌گونه‌ای ویروس‌ها می‌تواند نقش داشته باشد (RUBIO *ET AL.* 2017). همچنین هیچ گروه‌بندی فیلوژنتیک واضح بر اساس منشأ جغرافیایی جدایه‌های PDV بر اساس ژن MP مشاهده نشد به‌طوری‌که جدایه‌های PDV در دو گروه طبقه‌بندی شدند و جدایه مورد مطالعه در خوشه‌ی گروه I همراه با جدایه‌های PDV از مناطق جغرافیایی مختلف قرار گرفتند. در حال حاضر، جدایه گلمکان اولین جدایه جداسازی و ثبت‌شده از PDV بر گیلاس در ژن‌بانک از ایران است لذا به تحقیقات بیشتر برای بررسی تنوع جمعیتی بین جدایه‌های PDV در مناطق مختلف ایران وجود دارد.

در مطالعه حاضر، نتایج به‌دست‌آمده نشان می‌دهد که توالی‌های اسیدآمینه پروتئین حرکتی و دامنه اتصال به RNA پروتئین حرکتی در میان ویروس کوتولگی گوجه بسیار حفاظت‌شده هستند. این یافته‌ها ممکن است به درک بهتری از فرآیندهای مرتبط با این ویروس و مکانیسم‌های مولکولی در پس‌زمینه بیماری‌زایی آن

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-01]
[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.241]

کمک کند (PADUCH-CICHAL *ET AL.* 2011). مطالعات نشان داده است که در گیاهان آلوده، پروتئین‌های حرکتی ویروس‌ها در انتقال سلول به سلول ویروس، به‌صورت ویرون یا یک کمپلکس RNP (ریبونوکلئوپروتئین) نقش دارند (KOZIEŁ *ET AL.* 2017). از بیوانفورماتیک برای تحلیل توالی‌های اسیدآمینه پروتئین حرکتی در PDV و اعضای دیگر خانواده *BROMOVIRIDAE* استفاده شده است و مشخص گردید که توالی‌های دامنه اتصال به RNA پروتئین حرکتی در ایزوله‌های PDV بیشترین شباهت را به AMV دارند، که نشان می‌دهد که یک مکانیسم مشابه برای حمل‌ونقل سلول به سلول به شکل ویرون وجود دارد (KOZIEŁ *ET AL.* 2015). بااین‌حال، مکانیسم تعامل MP با اجزای سلولی نیازمند مطالعات بیشتر برای درک بهتر فرآیندهای تأثیرگذار بر تغییرات پاتولوژیک رخ‌داده در سلول‌های گیاهی است.

سپاسگزاری

در خاتمه از زحمات بی‌دریغ و تلاش مجدانه جناب آقای دکتر مسعود نادرپور (عضو هیات علمی موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال) که نهایت همکاری و مساعدت را مبذول داشته‌اند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد. مقاله مذکور مستخرج از پروژه "تولید هسته‌های عاری از ویروس دو رقم جدید معرفی شده گیلاس(*PRUNUS AVIUM* L.) " با شماره مصوب: ۹۹۰۶۳۹-۰۸۸-۳۳۱۶-۴۳-۳ می‌باشد.

منابع

Bachman, E. J., Scott, S. W., Xin, G. E., & Vance, V. B. (1994). The complete nucleotide sequence of prune dwarf ilarvirus RNA 3: implications for coat protein activation of genome replication in ilarviruses. Virology, 201(1), 127-131. doi: 10.1006/viro.1994.1272

Bonilla, F. R., & Cieniewicz, E. (2022). Distribution and diversity of Prunus necrotic ringspot virus, prune dwarf virus, and peach latent mosaic viroid in wild Prunus spp. in South Carolina and Georgia. doi: 10.1094/PHYTOFR-02-22-0013-R

Bujarski, J., Gallitelli, D., García-Arenal, F., Pallás, V., Palukaitis, P., Reddy, M. K., & ICTV Report Consortium. (2019). ICTV virus taxonomy profile: Bromoviridae. Journal of General Virology, 100(8), 1206-1207. doi: 10.1099/jgv.0.001282

Chirkov, S., Sheveleva, A., Tsygankova, S., Slobodova, N., Sharko, F., Petrova, K., & Mitrofanova, I. (2023). Whole Genome Characterization of Prunus Necrotic Ringspot Virus and Prune Dwarf Virus Infecting Stone Fruits in Russia. Horticulturae, 9(8), 941. doi:10.3390/horticulturae9080941

Codoñer, F. M., Cuevas, J. M., Sánchez-Navarro, J. A., Pallás, V., & Elena, S. F. (2005). Molecular evolution of the plant virus family Bromoviridae based on RNA3-encoded proteins. Journal of molecular evolution, 61, 697-705. doi:10.1007/s00239-005-0021-7

Crooks, G. E., Hon, G., Chandonia, J. M., & Brenner, S. E. (2004). WebLogo: a sequence logo generator. Genome research, 14(6), 1188-1190. doi:10.1101/gr.849004

Fallah, T., Nasrollahnezhad, S., Shahsavand, M., Ebadi, E. (2008). Detection of prune necrotic ring spot virus with serological method, DAS-ELISA and RT-PCR technique in Golestan province. 18th Iranian plant protection congress. Iran, Hamadan. 517. (In Persian)

Fiore, N., Fajardo, T. V., Prodan, S., Herranz, M. C., Aparicio, F., Montealegre, J., ... & Sánchez-Navarro, J. (2008). Genetic diversity of the movement and coat protein genes of South American isolates of Prunus necrotic ringspot virus. Archives of Virology, 153, 909-919. doi:10.1007/s00705-008-0066-1

Fonseca, F., Neto, J. D., Martins, V., & Nolasco, G. (2005). Genomic variability of Prune dwarf virus as affected by agricultural practice. Archives of virology, 150, 1607-1619. doi:10.1007/s00705-005-0507-z

Gholampour, Z., & Zakiaghl, M. (2016). Comparison of RNA Extraction Methods for the Identification of Grapevine fan leaf virus. Journal of Iranian Plant Protection Research, 30(1), 127-133. doi:10.22067/jpp.v30i1.40075

Gündoğan, P., Gazel, M., & Çağlayan, K. (2022). Detection and the Prevalence of Prune Dwarf Virus (PDV) in Important Cherry Plantations of the Eastern Mediterranean Region by DAS-ELISA and RT-PCR Analyzes. Uluslararası tarım araştırmalarında yenilikçi yaklaşımlar dergisi (Online), 6(2), 90-102. doi:10.29329/ijiaar.2022.451.3

Hasanpour, M. H., Ayazpour, K. (2018).Presence and Distribution of Prune dwarf virus in Stone Fruit Orchards in Fars Province, Iran Research in Plant Pathology, 5 (2), 69-76. (In Persian)

Herranz, M. C., & Pallas, V. (2004). RNA-binding properties and mapping of the RNA-binding domain from the movement protein of Prunus necrotic ringspot virus. Journal of general virology, 85(3), 761-768. doi:10.1099/vir.0.19534-0

Kamenova, I. L., & Borisova, A. Z. (2022). Biological and molecular properties of Prune dwarf virus cherry isolates from Bulgaria. Journal of Plant Diseases and Protection, 129(2), 301-311. doi:10.1007/s41348-021-00551-x

Katoh, K., Rozewicki, J., & Yamada, K. D. (2019). MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. Briefings in bioinformatics, 20(4), 1160-1166. doi:10.1093/bib/bbx108

Kozieł, E., Bujarski, J. J., & Otulak, K. (2017). Molecular biology of Prune Dwarf Virus- A lesser known member of the Bromoviridae but a vital component in the dynamic virus–host cell interaction network. International journal of

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-01]
[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.241]

Predajňa, L., Sihelská, N., Benediková, D., Šoltys, K., Candresse, T., & Glasa, M. (2017). Molecular characterization of Prune dwarf virus cherry isolates from Slovakia shows their substantial variability and reveals recombination events in PDV RNA3. European journal of plant pathology, 147, 877-885. doi:10.1007/s10658-016-1055-y

Ravelonandro, M. (2021). Reliable Methodologies and Impactful Tools to Control Fruit Tree Viruses. Crops, 1(1), 32-41. doi:10.3390/crops1010005

Rubio, M., Martínez-Gómez, P., Marais, A., Sánchez-Navarro, J. A., Pallás, V., & Candresse, T. (2017). Recent advances and prospects in Prunus virology. Annals of Applied Biology, 171(2), 125-138. doi:10.1111/aab.12371

Simkovich, A. J., Li, Y., Kohalmi, S. E., Griffiths, J. S., & Wang, A. (2021). Molecular identification of prune dwarf virus (PDV) infecting sweet cherry in Canada and development of a PDV full-length infectious cDNA clone. Viruses, 13(10), 2025. doi:10.3390/v13102025

Soltani, N., Hayati, J., Babaei, G., & Qomi, M. E. (2013). Serological and molecular detection of Prune dwarf virus infecting stone fruits of Charmahal-va-Bakhtiari province, a central region of Iran. International Journal of Plant Biology, 4(1), e4. doi:10.4081/pb.2013.e4

Ulubaş Serçe, Ç., Ertunç, F. İ. L. İ. Z., & ÖZtürk, A. D. N. A. N. (2009). Identification and genomic variability of Prune dwarf virus variants infecting stone fruit trees in Turkey. Journal of phytopathology, 157(5), 298-305. doi:10.1111/j.1439-0434.2008.01486.x

Ulubaş Serçe, Ç., Ertunç, F. İ. L. İ. Z., & ÖZtürk, A. D. N. A. N. (2009). Identification and genomic variability of Prune dwarf virus variants infecting stone fruit trees in Turkey. Journal of phytopathology, 157(5), 298-305. doi:10.1111/j.1439-0434.2008.01486.x

Vašková, D., Petrzik, K., & Špak, J. (2000). Molecular variability of the capsid protein of the prune dwarf virus. European Journal of Plant Pathology, 106, 573-580. doi:10.1023/A:1008742513754

Vaskova, D., Petrzik, K., & Spak, J.)2000(. Molecular variability of the capsid protein of the Prune dwarf virus. The European Journal of Plant Pathology, 106-573. doi:10.1023/A:1008742513754

Waterworth, H. E., & Fulton, R. W. (1964). Variation among isolates of necrotic ringspot and Prune dwarf viruses isolated from Sour Cherry. Phytopathology, 54(9), 1155-1160.

Zhao, S. H., Wang, J. Z., Li, M. F., Li, G. F., Ma, J., & Gou, J. W. (2009). Detection and identification of prune dwarf virus in Huairou district in Beijing. China Plant Protection, 29(2), 5-7.

molecular sciences, 18(12), 2733. doi:10.3390/ijms18122733

Koziel, E., Otulak, K., & Garbaczewska, G. (2015). Phylogenetic analysis of PDV movement protein compared to Bromoviridae members as justification of possible intercellular movement. Acta Biologica Cracoviensia. Series Botanica, 57(2). doi:10.1515/abcsb-2015-0019

Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2016). MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. Molecular biology and evolution, 33(7), 1870-1874. doi:10.1093/molbev/msw054

Massart, S., Brostaux, Y., Barbarossa, L., César, V., Cieslinska, M., Dutrecq, O., & Jijakli, M. H. (2008). Inter-laboratory evaluation of a duplex RT-PCR method using crude extracts for the simultaneous detection of Prune dwarf virus and Prunus necrotic ringspot virus. European Journal of Plant Pathology, 122, 539-547. doi:10.1007/s10658-008-9322-1

Mekuria, G., Ramesh, S. A., Alberts, E., Bertozzi, T., Wirthensohn, M., Collins, G., & Sedgley, M. (2003). Comparison of ELISA and RT-PCR for the detection of PNRSV and PDV in Australian almond trees. Options Mediterraneennes, 193-6. doi:10.1016/j.jviromet.2003.08.014

Melcher, U. (2000). The '30K'superfamily of viral movement proteins. Journal of General Virology, 81(1), 257-266. doi:10.1099/0022-1317-81-1-257

Mink, G. I. (1993). Pollen and seed-transmitted viruses and viroids. Annual review of phytopathology, 31(1), 375-402. doi:10.1146/annurev.py.31.090193.002111

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(9), e108277. doi:10.1371/journal.pone.0108277

Nemeth, M. (1986). Virus, mycoplasma and rickettsia diseases of fruit trees. Akademiai Kiado.

Németh, M., Nyerges, K., Hangyál, R., & Kósa, G. (2010). Surveying viruses on ornamental trees and shrubs in two Hungarian botanical gardens and an arboretum. Julius-Kühn-Archiv, (427), 293.

Paduch-Cichał, E., Sala-Rejczak, K., Mroczkowska, K., Boscia, D., & Potere, O. (2011). Serological characterization of Prune dwarf virus isolates. Journal of Plant Protection Research, 51(4), 389-392. doi:10.2478/v10045-011-0063-3

Predajňa, L., Sihelská, N., Benediková, D., Šoltys, K., Candresse, T., & Glasa, M. (2017). Molecular characterization of Prune dwarf virus cherry isolates from Slovakia shows their substantial variability and reveals recombination events in PDV RNA3. European journal of plant pathology, 147, 877-885. doi:10.1007/s10658-016-1055-y

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-01]

[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.241]