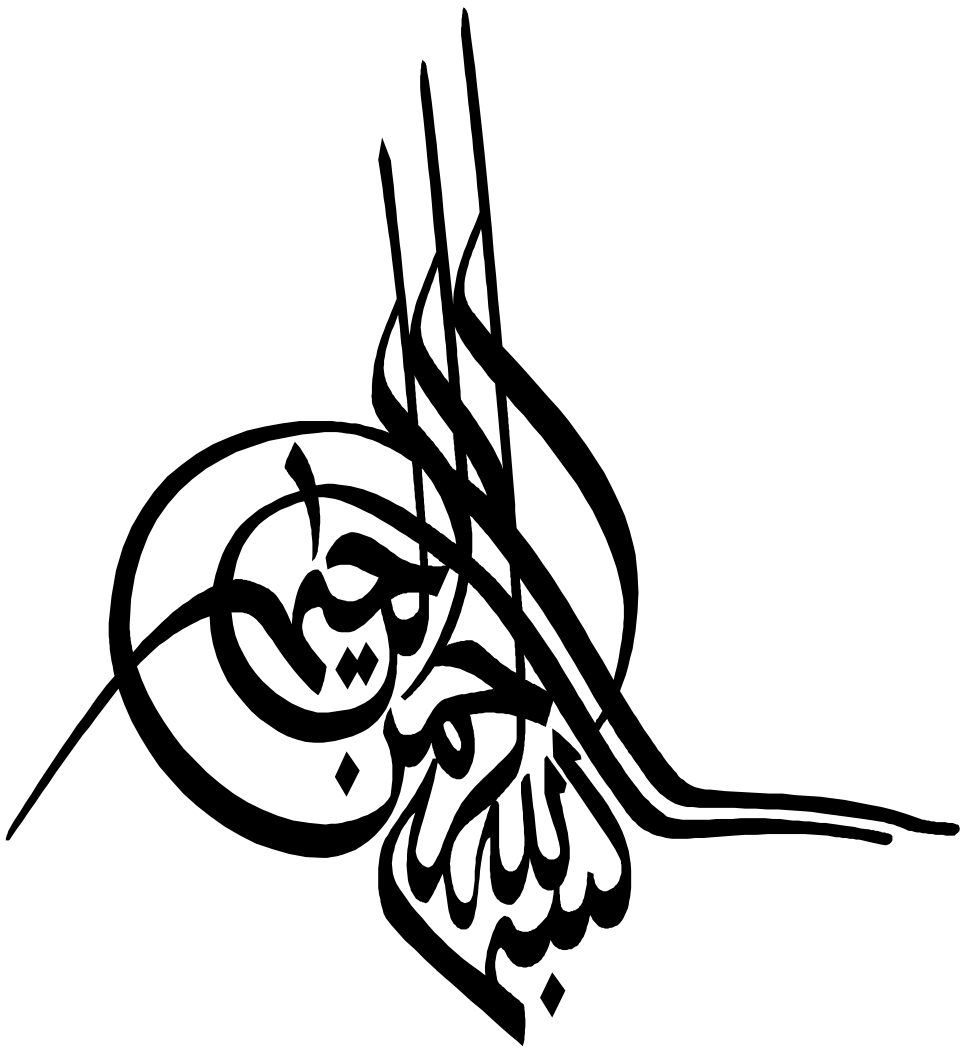
بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

دانشکده تولید گیاهی

گروه گیاهپزشکی

پایان‌نامه جهت اخذ مدرک کارشناسی‌ارشد (M.Sc.) در رشته بیماری‌شناسی گیاهی

تعیین ترادف نوکلئوتیدی کامل ژنوم ویروس موزاییک کوتولگی ذرت (MDMV)

پژوهش و نگارش

فروه سادات مصطفوی نیشابوری

اساتید راهنما

دکتر سعید نصراله‌نژاد

دکتر محمود معصومی

۱۳۹۰

تعهدنامه پژوهشی

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان مبین بخشی از فعالیت‌های علمی- پژوهشی بوده و همچنین با استفاده از اعتبارات دانشگاه انجام می‌شود، بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به موارد ذیل متعهد می‌شوند:

۱) قبل از چاپ پایان نامه (رساله) خود، مراتب را قبلا بطور کتبی به مدیریت تحصیلات تکمیلی دانشگاه اطلاع داده و کسب اجازه نمایند.

۲) در انتشار نتایج پایان‌نامه (رساله) در قالب مقاله، همایش، اختراع و اکتشاف و سایر موارد ذکر نام دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان الزامی است.

۳) انتشار نتایج پایان نامه (رساله) باید با اطلاع و کسب اجازه از استاد راهنما صورت گیرد.

اینجانب **فروه‌سادات مصطفوی** نیشابوری دانشجوی رشته **بیماری‌شناسی گیاهی** مقطع **کارشناسی‌ارشد** تعهدات فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده و به آن ملتزم می‌شوم.

تقدیم به:

خورشید چشمان پدرمهربانم،

غزل ناب هستی‌ام، استوارترین کوه تاریخ بودنم

شانه‌های بی‌دریغ مادر فداکارم،

آن شکیبه بی‌ادعا، زیباترین حکایت زندگی‌ام

و همسرم

که زندگی‌ام در کنار او معنا یافت و سرچشمه محبتی عمیق و ابدی است

و اساتید بزرگوارم جناب آقای دکتر نصراله نژاد و جناب آقای دکتر معصومی

که نبض خاطرم همه لحظه به پاس راهنمایی هایشان به یادشان خواهد بود

تشکر و قدردانی

منت خدای را عزوجل که طاعتش موجب قربت است و به شکر اندرش مزید نعمت
هر نفسی که فرو می‌رود ممد حیات است و چون برمی‌آید مفرح ذات
پس در هر نفسی دو نعمت نهفته و بر هر نعمتی شکری واجب
از دست و زبان که برآید کز عهده شکرش به در آید؟

سپاس بی پایان پروردگار را که به حکمت ناب ازلی و قدرت خاص لم یزال خویش انسان را کرامت بخشید تا از سرچشمه سرشار فیض الهی جام گوارای علم و دانش را بنوشد و بستر وجود خویش را عرصه رشد و تعالی نماید. اینک که در پرتو لطف الهی تحصیل خود را در مقطع کارشناسی ارشد به پایان رسانیده‌ام برخود لازم می‌دانم از بزرگوارانی که مرا در طی تحصیل یاری نموده‌اند قدردانی نمایم.

از محبت‌های خالصانه خانواده گرانقدرم و حمایت‌های بی‌دریغ همسر فداکارم و تشویق بی‌شائبه خانواده محترم همسرم صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمایم.

از اساتید راهنمای بزرگوار جناب آقای دکتر سعید نصراله نژاد که مرا از علم خود بهره مند نمود و دلسوزانه همراهم بود و جناب آقای دکتر محمود معصومی که نه تنها علم و دانشش را بر من ارزانی نمود بلکه با ایمان خالص و کلام آرامش به من درس معرفت آموخت، صمیمانه سپاسگزارم و برایشان از خداوند متعال آرزوی توفیق روز افزون دارم.

از استاد بزرگوار جناب آقای دکتر پهلوانی که شاگردی شان در طول تحصیل برایم افتخاری بزرگ بود و جناب آقای دکتر قاسمی که آشنایی با ایشان فرصتی بود گرانبها به دلیل قبول داوری پایان نامه و حسن دقتشان در تصحیح آن سپاسگزارم.

از جناب آقای دکتر صمدی نماینده محترم تحصیلات تکمیلی که با حضورشان بر کار بنده ارزش نهادند نهایت سپاس را دارم.

از کلیه‌ی کادر مجرب مرکز تحقیقات ویروس شناسی دانشگاه شیراز خصوصا جناب آقای دکتر ایزدپناه که بی هیچ چشم داشتی تجارب و اطلاعات ارزنده شان را در اختیار اینجانب قرار دادند قدردانی می‌نمایم.

از تمام دوستان و همکلاسی‌های مهربانم که در طول مدت تحصیل روزهای بیاد ماندنی را در کنارشان سپری کردم تشکر می‌نمایم، از همکلاسی عزیزم خانم عاطفه ذاکری و پشتیبان مهربانم خانم طاهره قهرمانی در مرکز ویروس شناسی صمیمانه متشکرم، باشد که در پناه ایزدمنان به موفقیت و کامیابی دست یابند و راه سعادت پیش گیرند.

چکیده

ویروس موزائیک کوتولگی ذرت (Maize dwarf mosaic virus, MDMV) از نظر اقتصادی در سطح جهانی یکی از مهم‌ترین ویروس‌های ذرت به شمار می‌آید. در ایران نیز این ویروس از اهمیت زیادی برخوردار است. هدف از انجام این تحقیق تعیین ترادف کامل ژنوم ویروس با استفاده از آغازگرهای اختصاصی طراحی شده و مقایسه آن با سایر ترادف‌های پوتی ویروسهای گرامینه موجود در بانک ژن بود. پس از انجام RT-PCR قطعات بدست آمده همسانه سازی و تعیین ترادف شدند. پس از تجمیع قطعات حاصل از تعیین ترادف، قطعه‌ای به طول ۹۵۰۰ جفت باز (به جز انتهای پلی آدنین) معادل کل ژنوم به دست آمد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزارهای بیوانفورماتیک انجام گرفت و ترادف به دست آمده به پروتئین ترجمه و جایگاه‌های برش پلی پروتئین تعیین شد. آنالیزهای فیلوژنتیکی بر اساس ترادف نوکلئوتیدی و آمینواسیدی ژنوم کامل و هر یک از ژن‌ها بین جدایه ایران و سایر پوتی ویروس‌های گرامینه به طور جداگانه نشان داد که جدایه MDMV ایران بیشترین شباهت را به جدایه بلغارستان و از میان سایر پوتی‌ویروس‌های غلات بیشترین شباهت را به ویروس موزاییک سورگوم از تگزاس و چین دارد. ترادف بدست آمده با ۲۰ پوتی ویروس غلات که ترادف کامل آنها در دسترس بود شباهت ٥٤ تا ۷۰/۵ درصد در سطح آمینو اسیدی داشت. بر اساس ترادف نوکلئوتیدی ژن پروتئین پوششی جدایه‌های MDMV در دو گروه مجزا از هم قرار گرفتند. از نتایج این تحقیق می‌توان در تحقیقات آینده در کارهای به نژادی و انتخاب ارقام مقاوم استفاده نمود، ضمن اینکه تعیین ترادف نوکلئوتیدی کامل ویروس برای درک بیولوژی، تنوع و تاریخ تکامل MDMV و نیز برای کشف استراتژی‌های جدید کنترلی و ارزیابی خطرات آن کاربرد دارد.

کلمات کلیدی: ویروس موزائیک کوتولگی ذرت، تعیین ترادف، پوتی‌ویروس‌های غلات، بیوانفورماتیک

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه و کلیات ۱

فصل دوم: بررسی منابع ۵

۲-۱- تیره پوتی‌ویریده ٦

۲-۲- جنس‌های خانواده پوتی‌ویریده ۹

۲-۲-۱- جنس Bymovirus ۹

۲-۲-۲- جنس Rymovirus ۱۰

۲-۲-۳- جنس Ipomovirus ۱۱

۲-۲-٤- جنس Macluravirus ۱۱

۲-۲-٥- جنس Tritimovirus ۱۲

۲-۲-٦- جنس Susmovirus ۱۲

۲-۲-۷- جنس Potyvirus ۱۳

۲-۳- ساختار ژنومی پوتی ویروس‌ها ۱٤

۲-۳-۱- فیلوژنی پوتی ویروس‌ها ۱۷

۲-۳-۲- پوتی‌ویروس‌های غلات ۱۹

۲-۳-۳- ویروس موزاییک کوتولگی ذرت (Maize dwarf mosaic virus. MDMV) ۲۰

فصل سوم: مواد و روش‌ها ۲۵

۳-۱- روش نمونه‌برداری ۲٦

۳-۲- روش آزمون الیزای غیر مستقیم ۲٦

۳-۳- روش آزمون RT-PCR ۲۷

۳-۳-۱- روش تهیه cDNA ۲۷

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

۳-۳-۲- روش به دام اندازی RNA ویروس ۲۷
۳-۳-۳- روش آزمون واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) ۲۹
۳-۳-٤- روش تهیه‌ی ژل و انجام الکتروفورز برای بررسی نتایج آزمون PCR ۳۲
۳-٤- روش همسانه سازی ۳۲
۳-٤-۱- روش اتصال cDNA به پلاسمید ۳۲
۳-٤-۲- روش انتقال پلاسمید نوترکیب به باکتری *E. coli* ۳۳
۳-٤-۳- انتخاب پرگنه‌های حاوی پلاسمید نوترکیب ۳۵
۳-٤-٤- روش استخراج پلاسمید ۳۵
۳-٤-٥- روش بررسی محصول همسانه‌سازی شده ۳٦
۳-٤- ٥-۱- هضم آنزیمی پلاسمید ۳٦
۳-٤-٥-۲- استفاده از PCR ۳۷
۳-٥- روش خالص‌سازی محصول PCR ۳۷
۳-٦- تعیین ترادف ۳۸
۳-۷- آنالیز ترادف‌ها و ترسیم دندروگرام ۳۹

فصل چهارم: نتایج ٤۳
٤-۱- منبع ویروس ٤٤
٤-۲- نتایج RT-PCR توسط آغازگرهای اختصاصی ٤٦
٤-۳- نتایج ارزیابی محصول همسانه سازی شده ٥۰
٤-٥- نتایج تعیین ترادف ٥۰
٤-٦- سازمان ژنوم ٥۱
٤-۷- 5'-UTR و 3'-UTR ٥۱
٤-۸- مقایسه شباهت‌ها و تفاوت‌های پروتئین‌های ویروسی جدایه ایران با پوتی‌ویروس‌های غلات در سطوح نوکلئوتیدی و آمینواسیدی ٥۲

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

٤-٩- موتیف‌های موجود در جدایه ایران..... ٥٤
٤-١٠- سایت‌های برشی احتمالی در جدایه ایران..... ٥٥
٤-١١- نتایج مقایسه جدایه‌های MDMV..... ٥٧

فصل پنجم: بحث..... ٨٣
منابع..... ٨٩
ضمایم..... ٩٩

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول ۳-۱- مواد لازم در واکنش نسخه برداری معکوس (RT).....۲۹
جدول ۳-۲- مواد استفاده شده در آزمون واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۳۰
جدول ۳-۳- چرخه‌ی دمایی آزمون واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۳۰
جدول ۳-٤- آغازگرهای مورد استفاده در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) ۳۱
جدول ۳-۵- مواد مورد نیاز برای اتصال قطعه DNA محصول PCR به پلاسمید pTZ57R/T.....۳۳
جدول ۳-٦- مواد لازم برای هضم آنزیمی پلاسمید حاوی قطعه‌ی DNA محصول PCR ۳٦
جدول ۳-۷- مشخصات پوتی ویروس‌های غلات که در مقایسه با MDMV ایران به کار برده شدند.....٤۰
جدول ۳-۸- جدایه‌های ویروس موزائیک کوتولگی ذرت که CP آنها با جدایه ایران مقایسه شده است...٤۱
جدول ٤-۱- طول قطعات به دست آمده از جفت آغازگرهای مختلف MDMV در PCR.....٤٦
جدول ٤-۲- موتیف‌های موجود در ژن‌های مختلف ویروس ۵۵
جدول ٤-۳- همردیف‌سازی سایت‌های برشی اصلی پلی پروتئین پوتی ویروس‌های غلات ۵٦

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل ۲-۱- ساختار ژنومی اعضای تیره پوتی‌ویریده و موقعیت پروتئازها در ویروس‌های تک بخشی.....۷
شکل ۲-۲- ساختار ژنومی اعضای تیره پوتی‌ویریده و موقعیت پروتئازها در ویروس‌های دو بخشی.....۸
شکل ۲-۳- موقعیت ORF، *PIPO* در ژنوم اعضای تیره پوتی ویریده.....۸
شکل ۳-۱- موقعیت آغازگرهای مورد استفاده روی ژنوم MDMV.....۳۰
شکل ۳-۲- پرگنه‌های آبی و سفید در محیط کشت LB جامد.....۳۵
شکل ٤-۱- علائم بیماری ویروسی موزاییک کوتولگی ذرت روی پهنک برگ ذرت.....٤٤
شکل ٤-۲- علائم ویروس موزاییک کوتولگی ذرت روی پهنک برگ سورگوم ٤٥
شکل ٤-۳- مزرعه ذرت آلوده به ویروس موزاییک کوتولگی ذرت ٤٥
شکل ٤-٤- نقوش الکتروفورزی محصولات RT-PCR با آغازگرهای اختصاصی MDMV.....٤٧
شکل ٤-٥- نقش الکتروفورزی هضم آنزیمی پلاسمید حاوی قطعه ۱۰۱۰ نوکلئوتیدی حاصل از آغازگر MDM8F / MDM8R با آنزیم‌های برشی PStI و EcoRI.....۵۰
شکل ٤-٦- سازمان ژنوم MDMV و موقعیت محل برش ژن‌ها روی ژنوم ویروس ۵۱
شکل ٤-۷- ترادف پوتی باکس a در ناحیه ´۵ ژنوم پوتی‌ویروس‌های غلات ۵۲
شکل ٤-۸- دندروگرام رابطه جدایه ایرانیMDMV با جدایه‌های دیگر پوتی‌ویروس‌های غلات بر اساس ترادف نوکلئوتیدی ژنوم کامل که به روش Maximum-parsimony ۵۸
شکل ٤-۹- درصد شباهت و تفاوت جدایه MDMV ایران با پوتی ویروس‌های غلات براساس هم ردیف‌سازی ترادف‌های نوکلئوتیدی ژنوم کامل توسط نرم‌افزار DNASTAR (MegAlign).....۵۹
شکل ٤-۱۰- درصد شباهت و تفاوت جدایه MDMV ایران با پوتی ویروس‌های غلات براساس هم ردیف‌سازی ترادف‌های آمینواسیدی ژنوم کامل توسط نرم‌افزار DNASTAR (MegAlign).....۵۹
شکل ٤-۱۱- درصد شباهت و تفاوت جدایه MDMV ایران با پوتی ویروس‌های غلات براساس هم ردیف‌سازی ترادف‌های آمینواسیدی ژن P1 توسط نرم‌افزار DNASTAR (MegAlign) ٦۰
شکل ٤-۱۲- درصد شباهت و تفاوت جدایه MDMV ایران با پوتی ویروس‌های غلات براساس هم ردیف‌سازی ترادف‌های نوکلئوتیدی ژن P1 توسط نرم‌افزار DNASTAR (MegAlign) ٦۰

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل ٤-١٣- درصد شباهت و تفاوت جدایه MDMV ایران با پوتی ویروس‌های غلات براساس هم ردیف‌سازی ترادف‌های آمینواسیدی ژن HC-Pro توسط نرم‌افزار DNASTAR (MegAlign).....٦١
شکل ٤-١٤- درصد شباهت و تفاوت جدایه MDMV ایران با پوتی ویروس‌های غلات براساس هم ردیف‌سازی ترادف‌های نوکلئوتیدی ژن HC-Pro توسط نرم‌افزار DNASTAR (MegAlign).....٦١
شکل ٤-١٥- درصد شباهت و تفاوت جدایه MDMV ایران با پوتی ویروس‌های غلات براساس هم ردیف‌سازی ترادف‌های آمینواسیدی ژن P3 توسط نرم‌افزار DNASTAR (MegAlign) ٦٢
شکل ٤-١٦- درصد شباهت و تفاوت جدایه MDMV ایران با پوتی ویروس‌های غلات براساس هم ردیف‌سازی ترادف‌های نوکلئوتیدی ژن P3 توسط نرم‌افزار DNASTAR (MegAlign) ٦٢
شکل ٤-١٧- درصد شباهت و تفاوت جدایه MDMV ایران با پوتی ویروس‌های غلات براساس هم ردیف‌سازی ترادف‌های آمینواسیدی ژن 6K1 توسط نرم‌افزار DNASTAR (MegAlign).....٦٣
شکل ٤-١٨- درصد شباهت و تفاوت جدایه MDMV ایران باپوتی ویروس‌های غلات براساس هم ردیف‌سازی ترادف‌های نوکلئوتیدی ژن 6K1 توسط نرم‌افزار DNASTAR (MegAlign) ٦٣
شکل ٤-١٩- درصد شباهت و تفاوت جدایه MDMV ایران با پوتی ویروس‌های غلات براساس هم ردیف‌سازی ترادف‌های آمینواسیدی ژن CI توسط نرم‌افزار DNASTAR (MegAlign).....٦٤
شکل ٤-٢٠- درصد شباهت و تفاوت جدایه MDMV ایران با پوتی ویروس‌های غلات براساس هم ردیف‌سازی ترادف‌های نوکلئوتیدی ژن CI توسط نرم‌افزار DNASTAR (MegAlign).....٦٤
شکل ٤-٢١- درصد شباهت و تفاوت جدایه MDMV ایران با پوتی ویروس‌های غلات براساس هم ردیف‌سازی ترادف‌های آمینواسیدی ژن 6K2 توسط نرم‌افزار DNASTAR (MegAlign).....٦٥
شکل ٤-٢٢- درصد شباهت و تفاوت جدایه MDMV ایران با پوتی ویروس‌های غلات براساس هم ردیف‌سازی ترادف‌های نوکلئوتیدی ژن 6K2 توسط نرم‌افزار DNASTAR (MegAlign).....٦٥
شکل ٤-٢٣- درصد شباهت و تفاوت جدایه MDMV ایران با پوتی ویروس‌های غلات براساس هم ردیف‌سازی ترادف‌های آمینواسیدی ژن VPg توسط نرم‌افزار DNASTAR (MegAlign) ٦٦
شکل ٤-٢٤- درصد شباهت و تفاوت جدایه MDMV ایران با پوتی ویروس‌های غلات براساس هم ردیف‌سازی ترادف‌های نوکلئوتیدی ژن VPg توسط نرم‌افزار DNASTAR (MegAlign) ٦٦

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل ٤-٢٥- درصد شباهت و تفاوت جدایه MDMV ایران با پوتی ویروس‌های غلات براساس هم ردیف‌سازی ترادف‌های آمینواسیدی ژن NIa توسط نرم افزار DNASTAR (MegAlign) ٦٧
شکل ٤-٢٦- درصد شباهت و تفاوت جدایه MDMV ایران با پوتی ویروس‌های غلات براساس هم ردیف‌سازی ترادف‌های نوکلئوتیدی ژن NIa توسط نرم افزار DNASTAR (MegAlign) ٦٧
شکل ٤-٢٧- درصد شباهت و تفاوت جدایه MDMV ایران با پوتی ویروس‌های غلات براساس هم ردیف‌سازی ترادف‌های آمینواسیدی ژن NIb توسط نرم‌افزار DNASTAR (MegAlign) ٦٨
شکل ٤-٢٨- درصد شباهت و تفاوت جدایه MDMV ایران با پوتی ویروس‌های غلات براساس هم ردیف‌سازی ترادف‌های نوکلئوتیدی ژن NIb توسط نرم‌افزار DNASTAR (MegAlign) ٦٨
شکل ٤-٢٩- درصد شباهت و تفاوت جدایه MDMV ایران با پوتی ویروس‌های غلات براساس هم ردیف‌سازی ترادف‌های آمینواسیدی ژن CP توسط نرم‌افزار DNASTAR (MegAlign).....٦٩
شکل ٤-٣٠- درصد شباهت و تفاوت جدایه MDMV ایران با پوتی ویروس‌های غلات براساس هم ردیف‌سازی ترادف‌های نوکلئوتیدی ژن CP توسط نرم‌افزار DNASTAR (MegAlign).....٦٩
شکل ٤-٣١- دندروگرام رابطه جدایه ایرانیMDMV با جدایه‌های دیگر پوتی‌ویروس‌های غلات بر اساس ترادف نوکلئوتیدی ناحیه P1 به روش Neighbor-Joining.....٧٠
شکل ٤-٣٢- دندروگرام رابطه جدایه ایرانیMDMV با جدایه‌های دیگر پوتی‌ویروس‌های غلات بر اساس ترادف نوکلئوتیدی ناحیه HC-Pro به روش Neighbor-Joining ٧١
شکل ٤-٣٣- دندروگرام رابطه جدایه ایرانیMDMV با جدایه‌های دیگر پوتی‌ویروس‌های غلات بر اساس ترادف نوکلئوتیدی ناحیه P3 به روش Neighbor-Joining ٧٢
شکل ٤-٣٤- دندروگرام رابطه جدایه ایرانیMDMV با جدایه‌های دیگر پوتی‌ویروس‌های غلات بر اساس ترادف نوکلئوتیدی ناحیه 6K1 به روش Neighbor-Joining.....٧٣
شکل ٤-٣٥- دندروگرام رابطه جدایه ایرانیMDMV با جدایه‌های دیگر پوتی‌ویروس‌های غلات بر اساس ترادف نوکلئوتیدی ناحیه CI به روش Neighbor-Joining ٧٤

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل ٤-٣٦- دندروگرام رابطه جدایه ایرانیMDMV با جدایه‌های دیگر پوتی‌ویروس‌های غلات بر اساس ترادف نوکلئوتیدی ناحیه 6K2 به روش Neighbor-Joining ٧٥
شکل ٤-٣٧- دندروگرام رابطه جدایه ایرانیMDMV با جدایه‌های دیگر پوتی‌ویروس‌های غلات بر اساس ترادف نوکلئوتیدی ناحیه VPg به روش Neighbor-Joining ٧٦
شکل ٤-٣٨- دندروگرام رابطه جدایه ایرانیMDMV با جدایه‌های دیگر پوتی‌ویروس‌های غلات بر اساس ترادف نوکلئوتیدی ناحیه NIa به روش Neighbor-Joining ٧٧
شکل ٤-٣٩- دندروگرام رابطه جدایه ایرانی MDMV با جدایه‌های دیگر پوتی‌ویروس‌های غلات بر اساس ترادف نوکلئوتیدی ناحیه NIb به روش Neighbor-Joining ٧٨
شکل ٤-٤٠- دندروگرام رابطه جدایه ایرانیMDMV با جدایه‌های دیگر پوتی‌ویروس‌های غلات بر اساس ترادف نوکلئوتیدی ناحیه CP به روش Neighbor-Joining ٧٩
شکل ٤-٤١- دندروگرام رابطه جدایه ایرانیMDMV با جدایه‌های دیگر ویروس بر اساس ترادف نوکلئوتیدی ناحیه CP که به روش Neighbor-Joining ٨٠
شکل ٤-٤٢- موقعیت نواحی حذف شده در ژن CP جدایه‌های MDMV در مقایسه با سایر پوتی ویروس‌های غلات ٨١

فصل اول

مقدمه و کلیات

ذرت (*Zea mays*) از خانواده *Poaceae* و سومین غله جهان می‌باشد که از لحاظ میزان تولید بعد از گندم در رتبه دوم و مکان سوم را بعد از گندم و برنج از نظر سطح زیر کشت دارد و در سال‌های اخیر نیز کشت ذرت از اهمیت بیشتری برخوردار گردیده است. اهمیت محصول و بالا بردن سطح زیر کشت این نبات به علت قدرت تطابق آن با شرایط اقلیمی گوناگون می‌باشد، بدین جهت جزو عمده‌ترین محصولات مناطق معتدله ،معتدله گرم، نیمه گرمسیر و مرطوب به شمار می‌رود (نور محمدی و همکاران، ۱۳۷٦). به طور کلی بیش از ۳/٤ درصد انرژی و ۱/۲ درصد پروتئین مورد نیاز بشر از غلات بدست می‌آید. به دلیل وابستگی شدید انسان به تعداد معدودی از گونه‌های گیاهی، رفاه بشر در آینده به شدت در گرو میزان شناختی است که درباره تولید و تطابق پذیری بالقوه این گیاهان کسب می‌کند. نه تنها تعداد این گونه‌های مورد استفاده بسیار محدود است بلکه سهم آنان در مجموع تولید نیز به یک میزان نیست (کافی و همکاران، ۱۳۸٤).

طبق آخرین آمار فائو در سال ۲۰۰۸، مناطق زیر کشت ذرت در دنیا ۱٦۰ میلیون هکتار و در ایران در سال زراعی ۸۸-۸۷، ۲۲۵٦۳۹ هکتارگزارش شده که از این مقدار ۲۲٤۷٦۱ هکتار بصورت کشت آبی و ۸۷۸ هکتار بصورت کشت دیم می‌باشد و در استان گلستان نیز سطح زیر کشت ۷۲۰ هکتار بصورت کشت آبی می‌باشد (آمار نامه کشاورزی، ۱۳۸۸).

توسعه کشت ذرت مسائل فراوانی را به همراه داشته است که از آن جمله می‌توان به طغیان برخی ویروس‌های گیاهی اشاره کرد. ویروس‌ها از جمله عوامل زیانباری هستند که بطور معمول باعث کاهش عملکرد و خسارت اقتصادی می‌شوند. این عوامل معمولاً بصورت اندمیک و گاهی با شیوع گسترده در یک منطقه بصورت طغیانی خسارت غیر قابل جبرانی وارد می‌کنند. بیش از ٤۰ ویروس در ذرت ایجاد بیماری می‌کنند که یکی از آنها بیماری ویروس موزاییک کوتولگی ذرت است. این ویروس در نقاط مختلف دنیا که میزبان‌های حساس آن رشد می‌کند وجود دارد و باعث بیماری موزاییک و افت محصول می‌شود (چنگ و همکاران، ۲۰۰۲).

سال‌ها این ویروس در نیشکر شیوع داشت، و خسارات زیادی را در بسیاری از کشورها موجب می‌شد، تا اینکه ابتدا ارقام متحمل و سپس مقاوم به این ویروس معرفی گردیدند (کلینکوسکی، ۱۹۷۰).

MDMV اولین بار در جنوب اوهایو درسال ۱۹٦۳ کشف شد (ویلیام و الکساندر، ۱۹٦۵). در ایران، معینی و ایزدپناه در سال ۱۳۸۰ برای اولین بار پوتی ویروسی مشابه به MDMV را از منطقه

دشت ناز ساری گزارش کردند و آن را سویه MM (maize mazandaran) نامیدند (معینی و ایزد پناه، ۱۳۸۰). در سال ۱۳۸۲ وجودMDMV در استان‌های مازندران و اصفهان مورد تایید قرار گرفت (معصومی و همکاران، ۱۳۸۲). زارع و همکاران در سال ۱۳۸۳ با استفاده از روشهای سرولوژیک و ترادف نوکلئوتیدی ناحیه CP-UTR، MDMV جدا شده از ذرت و قیاق مناطق دشت ناز ساری و اصفهان را با سایر پوتی‌ویروس‌های غلات مقایسه کردند (زارع و همکاران، ۱۳۸۳). اطلاعات ترادف نوکلئوتیدی کامل برای درک بیولوژی، تنوع و تاریخ تکامل یک ویروس و نیز برای کشف استراتژی‌های جدید کنترلی و ارزیابی خطرات آن ضروری می‌باشد (آکان و همکاران، ۲۰۰۷). مقایسه‌های ترادف نوکلئوتیدی تعداد زیادی از مسائل تاکسونومیکی را حل کرده است و مباحثی درباره چگونگی بهتر شدن تشخیص گونه‌ها و گروه‌های ویروسی بدست آمده است (گیبس و اوشیما، ۲۰۱۰). تعیین ترادف نوکلئوتیدی در تحقیقات آینده در کارهای به نژادی و انتخاب ارقام مقاوم مورد استفاده قرار می‌گیرد، تا کنون دو ترادف کامل از MDMV گزارش شده است (آکان و همکاران، ۲۰۰۷ و کانگ و استاینبس، ۱۹۹۸).

هدف از این تحقیق تعیین ترادف نوکلئوتیدی ژنوم کامل ویروس موزاییک کوتولگی ذرت و مقایسه ساختار ژنومی آن با دیگر جدایه‌های این ویروس و سایر پوتی‌ویروس‌های غلات موجود در بانک ژن بوده است.

فصل دوم

بررسی منابع

۲-۱ تیره پوتی‌ویریده

تیره پوتی‌ویریده بزرگترین و از نظر اقتصادی مهم‌ترین تیره ویروس‌های گیاهی محسوب می‌شود که بسیاری از آنها از بیمارگرهای مهم محصولات زراعی می‌باشند (گیبس و همکاران، ۲۰۰۳). این تیره شامل ۲۰۰ عضو قطعی و احتمالی است که ۲۰ درصد کل ویروس‌های گیاهی طبقه بندی شده می‌باشد و اغلب باعث افت معنی دار محصولات کشاورزی، مرتعی، باغبانی و زینتی می‌شوند (چن و همکاران، ۲۰۰۱). تا چند سال اخیر تیره پوتی ویریده شامل ٦ جنس ***Tritimovirus, ،Rymovirus, Potyvirus*** ***Macluravirus, Ipomovirus, Bymovirus*** بوده که بالغ بر ۱۹۰ گونه گیاه و از این میان ۲۰ گونه از تیره ***Poaceae*** را آلوده می‌کنند. اما گونه‌هایی در این تیره گزارش شده‌اند که به هیچ یک از جنس‌ها نسبت داده نشده بودند (گیبس و مکنزی، ۱۹۹۷ و ریورس و کندرس، ۲۰۰٤). مثل ویروس موزاییک رگه‌ای نیشکر[1] که شباهت اندکی به دو جنس ***Ipomovirus*** و ***Tritimovirus*** داشت، اخیرا به جنس جدید ***Susmovirus*** انتقال یافته است و یا جنس ***Sparmovirus*** که ویروس موزاییک اسپارتینا[2] در آن قرار می‌گیرند به عنوان یک جنس جدید در این تیره پیشنهاد شده است (گوتز و همکاران، ۲۰۰۲). بنابراین تیره پوتی‌ویریده با ۷ جنس قطعی و یک جنس پیشنهادی شناخته می‌شود (زو و همکاران، ۲۰۱۰). تفکیک جنس‌های این تیره براساس شکل پیکره، وجود اندامک‌های ویژه درون سلولی، نحوه انتقال، ساختار ژنوم و نحوه بیان آن و ترادف نوکلئوتیدی صورت گرفته است (استنگر و همکاران، ۱۹۹۸ و بورنت و همکاران، ۱۹۹٦).

همه اعضای این تیره دارای ذرات رشته ای خمش پذیر به طول ۹۰۰-٦۵۰ نانومتر یا ٦۰۰-۵۰۰ نانومتر و ۳۰۰-۲۰۰ نانومتر با عرض ۱۱-۱۳ نانومتر می‌باشند و همگی آنها دارای RNA ژنومی تک لای مثبت به طول تقریبا ۱۰ kb می‌باشند (چن و همکاران، ۲۰۰۱). به جز جنس ***Bymovirus*** که دارای ژنوم دو بخشی است سایر جنس‌های این تیره ژنوم تک بخشی دارند (چانگ و همکاران، ۲۰۰۸).

تنوع اندامک‌های ویژه درون سلولی[3] از مشخصات تیره پوتی‌ویریده است. این اندامک‌ها از تجمع پروتئین‌هایی تشکیل می‌شوند که حاصل ترجمه ژنوم ویروس می‌باشند (آلیسون و همکاران، ۱۹۸۶).

1 - Sugarcane streak mosaic virus
2 - Spartina mottle virus
3 - Inclusion body