

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

دانشکده تولید گیاهی

گروه گیاه پزشکی

پایان نامه جهت اخذ مدرک کارشناسی ارشد (M.Sc.) در رشته بیماری شناسی گیاهی

بررسی رابطه دگرپادی بین ویروس های موزائیک جنوبی مرغ و موزائیک کوتولگی ذرت

پژوهش و نگارش

عاطفه ذاکری

اساتید راهنما

دکتر سعید نصراله نژاد

دکتر محمود معصومی

شهریور 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 فعالیت های علمی- پژوهشی بوده و همچنین با استفاده از اعتبارات دانشگاه انجام می شود، بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به موارد ذیل متعهد می شوند:

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

۲) در انتشار نتایج پایان نامه (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 عاطفه ذاکری دانشجوی رشته بیماری شناسی گیاهی مقطع کارشناسی ارشد تعهدات فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده و به آن ملتزم می شوم.

تقدیم بہ:

خطوط مبہم پیشانی پدر فداکارم،

غزل ناب ہستی ام، استوارترین کویہ تاریخ بود نم

بہ رسم بوسہ ای بردستان باصغائش

سازہای بی دریغ مادر فداکارم، آن شکیبہ بی ادعا

زیباترین حکایت زندگی ام

بہ شوق طنین روح انگیز دعای خیرش

خواهران و برادران مہربانم کہ در عین عطف و مہربان بودن،

والا ترین پشتوانہ سی زندگی ام ہستند.

شکر و قدردانی

خدایا از تو به پاس همه داشته‌ها و نداشته‌هایم بی‌نیامت سپاسگزارم.

از پدر و مادر عزیز و دلسوزم که هر چه داشته‌ام و به دست خواهم آورد تنها و تنها حاصل عمر، زحمت‌ها و دعای خیر آنهاست، سپاسگزاری می‌کنم. دست‌بوس دستان کرم و پر لطفشان، بسم و از خداوند برای آنها طول عمر با عزت و سلامتی و عاقبت نیکو مسئلت دارم.

الکون که به لطف و یاری پروردگار این پژوهش به پایان رسیده است، بر خود لازم می‌دانم که از اساتید راهنمای بزرگوارم جناب آقای دکتر سعید نصرا... برادر و آقای دکتر محمود مصومی برای تمام راهنمایی‌ها، زحمت‌ها و سعی صدرشان در طول انجام این پژوهش، از صمیم قلب سپاسگزاری کنم.

از داوران محترم جناب آقای دکتر بهلوانی و جناب آقای دکتر قاسمی بزدی و یاننده محترم تحصیلات تکمیلی جناب آقای دکتر صدقی که با حضورشان بر کار من ارزش نهادند، شکر ویژه دارم.

بر خود واجب می‌دانم که از کمک‌های بی‌شائبه‌ی مسئولین و کارکنان بخش گیاه‌پزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی کرگان و مرکز تحقیقات ویروس‌شناسی گیاهی دانشگاه شیراز پاس و قدردانی کنم.

در نهایت از تمامی عزیزانی که هر یک با قدمی، قلمی یا سخنی در عبور از این مسیر سخت، مرا هم چون محبت‌هایشان نمودند سپاس فراوان دارم باشد که روزی جبران نمایم.

چکیده

از بین پوتی ویروس‌های غلات در ایران دو ویروس موزائیک کوتولگی ذرت (*Maize dwarf*) و موزائیک جنوبی مرغ (*Bermuda grass southern mosaic, BgSMV*) و موزائیک جنوبی مرغ (*mosaic virus, MDMV*) از لحاظ بیولوژیکی، سرولوژیکی و مولکولی شباهت زیادی بهم دارند. در این تحقیق برای تعیین جایگاه تاکسونومیکی دو ویروس و تمایز دقیق آنها از یکدیگر رابطه دگرپادی بررسی شد. این آزمون در قالب ۵ تیمار با ۵ تکرار ده بوته‌ای طراحی شد. تیمارها شامل مایه زنی متوالی (مایه زنی ویروس دوم بعد از بروز علائم ویروس اول)، توأم و مجزای دو ویروس بودند. در این بررسی رابطه دگرپادی موزائیک ایرانی قیاق (*Iranian Johnson grass mosaic virus, IJMV*) با دو ویروس *BgSMV* و *MDMV* به عنوان شاهد مطالعه شد که بین آنها هیچ رابطه دگرپادی مشاهده نشد. دو هفته بعد از مایه زنی ویروس دوم، برای استخراج آران‌آی ویروس با استفاده از کیت *mRNA Capture Kit (Roche)* از تیمارها نمونه برداری شد. *cDNA* حاصل با جفت آغازگرهای *MD3F/MD1R* و *BgSMF90/MD1R* در آزمون *PCR* تکثیر شدند. نتایج آزمون *PCR* نشان داد که ویروس مایه زنی اول از تکثیر ویروس دوم جلوگیری می‌کند و در مایه زنی توأم نیز هر دو ویروس تکثیر می‌یابند. براین اساس می‌توان نتیجه گرفت که دو ویروس با هم رابطه دگرپادی دارند و ممکن است دو ویروس با رابطه بسیار نزدیک به هم و یا استرین‌های یک ویروس باشند که بین آنها مکانیزم دگرپادی عمل می‌کند.

واژگان کلیدی: ویروس موزائیک کوتولگی ذرت، ویروس موزائیک جنوبی مرغ، ویروس موزائیک ایرانی قیاق، دگرپادی

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
فصل اول: مقدمه و کلیات.....	۱
مقدمه.....	۲
فصل دوم: بررسی منابع.....	۵
۱-۲- تیره Potyviridae.....	۶
۲-۲- جنس Potyvirus.....	۷
۱-۲-۲- ساختار مولکولی.....	۷
۲-۲-۲- دامنه میزبانی، بقا و انتقال.....	۹
۳-۲-۲- معیارهای مهم در طبقه بندی پوتی ویروس‌ها.....	۹
۴-۲-۲- پوتی ویروس‌های غلات.....	۱۱
۱-۴-۲-۲- ویروس موزائیک کوتولگی ذرت (<i>Maize dwarf mosaic virus</i> , MDMV).....	۱۳
۲-۴-۲-۲- ویروس موزائیک جنوبی مرغ (<i>Bermuda grass southern mosaic</i> , BgSMV).....	۱۵
۳-۴-۲-۲- موزائیک ایرانی قیاق (<i>Iranian Johnson grass mosaic virus</i> , IJMV).....	۱۷
۳-۲- آلودگی مخلوط ویروس‌ها.....	۱۸
۱-۳-۲- هم افزایی.....	۱۸
۲-۳-۱- دگرپادی (cross protection).....	۲۱
فصل سوم: مواد و روش‌ها.....	۲۷
۱-۳- نمونه‌برداری.....	۲۸
۲-۳- آزمون الیزای غیر مستقیم (Indirect ELISA).....	۲۸
۳-۳- تکثیر و نگهداری ویروس در گلخانه.....	۲۹
۴-۳- آزمون دگرپادی.....	۳۰

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
۳-۵- خالص سازی فیزیکی ویروس	۳۱
۳-۶- تعیین غلظت آماده ویروسی	۳۲
۳-۷- آزمون RT-PCR	۳۲
۳-۷-۱- استخراج آر ان ای ویروس	۳۲
۳-۷-۲- به دام اندازی آر ان ای ویروس	۳۲
۳-۷-۳- واکنش ترانوئسی معکوس (RT)	۳۳
۳-۷-۴- آزمون واکنش زنجیره ای پلیمرز	۳۴
۳-۷-۵- تهیه ی ژل و انجام الکتروفورز برای بررسی نتایج آزمون PCR	۳۵
فصل چهارم: نتایج	
۴-۱- نتایج پراکنش پوتی ویروس ها روی ذرت در شهرستان گرگان	۳۸
۴-۲- نتایج بررسی تهیه منبع ویروس	۳۸
۴-۳- نتایج بررسی آزمون دگرپادی	۴۱
فصل پنجم: بحث	
۵-۱- نمونه برداری	۵۰
۵-۲- آزمون دگرپادی	۵۰
نتیجه گیری کلی و پیشنهادات	۵۸
منابع	۵۹

فهرست جداول

صفحه

عنوان

جدول ۱-۲-مثال هایی از آزمون دگرپادی بین ویرس های گیاهی.....	۲۴
جدول ۱-۳-مواد لازم در واکنش ترانویسی معکوس (RT).....	۳۳
جدول ۲-۳-مواد لازم در واکنش PCR.....	۳۴
جدول ۳-۳-چرخه ی دمایی آزمون واکنش زنجیره ای پلیمرز.....	۳۴
جدول ۴-۳-ترادف آغاز گر های استفاده شده در واکنش PCR.....	۳۵
جدول ۵-۳-دمای تافتن برای هر جفت آغازگر.....	۳۵
جدول ۱-۴-مناطق نمونه برداری، گیاه میزبان و نمونه های آلوده به ویروس های JIMV، MDMV و آلودگی توام به هر دو ویروس.....	۳۹
جدول ۲-۴-جدول تجزیه واریانس مربوط به طرح آماری کاملاً تصادفی در ۵ تیمار در هر گروه (۱۲ تیمار) با ۵ تکرار (ده بوته در هر تکرار).....	۴۴
جدول ۳-۴-تعداد و میانگین نمونه های آلوده گیاهی در بررسی آزمون دگرپادی بین ویروس های MDMV، BgSMV و IJMV و نوع آزمون تشخیصی برای ردیابی ویروس.....	۴۵

فهرست اشکال

عنوان	صفحه
شکل ۱-۲- سازمان ژنوم پوتی ویروس‌ها و موقعیت ژن‌های ویروس در پلی پروتئین.....	۸
شکل ۴-۱- علائم موزائیک MDMV در سورگوم.....	۴۰
شکل ۴-۲- علائم موزائیک BgSMV در سورگوم.....	۴۰
شکل ۴-۳- IJMV در سورگوم: علائم موزائیک در سورگوم رقم KFS3 (الف) و علائم نکروز در سورگوم پیام (ب).....	۴۰
شکل ۴-۴- نقوش الکتروفورزی محصول PCR، MDMV و BgSMV با استفاده از جفت آغازگر MD3f/MD1r، در آزمون دگرپادی.....	۴۶
شکل ۴-۵- نقوش الکتروفورزی محصول PCR ویروس‌های MDMV و BgSMV با جفت آغازگر BgSMF90/BgSMRb در تیمار آلودگی توام دو ویروس در آزمون دگر پادی.....	۴۷
شکل ۴-۶- نتایج RT-PCR حاصل از تیمارهای توام ویروس‌های MDMV و BgSMV با آغازگرهای BgSMF90/BgSMRb پس از استفاده از PCR purification در ژل الکتروفورز.....	۴۸
شکل ۴-۷- نتایج RT-PCR نمونه‌های ذرت و قیاق مناطق آلفن و جاده یساقی با آغازگر عمومی پوتی ویروس‌ها (oligo1n/oligo2n) و قطعه ۳۲۷ نوکلئوتیدی حاصل از تکثیر ویروس (M: مارکر GenRuler™ 100 bp DNA Ladder از شرکت Fermentas).....	۴۸

فصل اول

مقدمه و کلیات

مقدمه

پوتی ویروس‌ها بزرگترین و از لحاظ اقتصادی مهمترین ویروس‌های گیاهی هستند (شوکلا و همکاران ۱۹۹۴، فایوکیت و مایو ۱۹۹۹). این جنس از تیره potyviridae، دارای ۱۱۸ عضو قطعی و ۸۲ عضو احتمالی می‌باشد (ون ریگنمورتل و همکاران، ۲۰۰۰). سه ویروس موزائیک کوتولگی ذرت (*Maize dwarf mosaic virus, MDMV*)، موزائیک جنوبی مرغ (*Bermuda grass southern mosaic virus, BgSMV*) و موزائیک ایرانی قیاق (*Iranian Johnson grass mosaic virus, IJMV*) از پوتی ویروس‌های مهم غلات در ایران می‌باشند (معصومی و همکاران، ۲۰۱۱).

ویروس MDMV اولین بار از جنوب ایالت اوهایو در سال ۱۹۶۳ گزارش شد (ویلیامز و الکساندر، ۱۹۵۶). شوکلا و همکاران در سال ۱۹۸۹(b) آن را بعنوان یک عضو مستقل در گروه پوتی ویروس مورد تأیید قرار دادند. در بین میزبان‌های تیره گرامینه (بجز گندم، جو، یولاف، چاودار و برنج) ذرت و سورگوم از میزبان‌های طبیعی MDMV می‌باشند که در آنها علائم موزائیک و نکروتیک در برگ‌ها و همچنین کوتولگی بوته ایجاد می‌کند (فورد و توسیک، ۱۹۷۲). البته علائم ویروس در گیاه حساس بطور قابل توجهی به استرین ویروس، ژنوتیپ گیاه و دما بستگی دارد (ادموندز و نیبلت، ۱۹۷۳). این ویروس در همه مناطقی که ذرت و سورگوم کشت می‌شود وجود دارد (فورد و همکاران، ۱۹۸۹). در ایران نیز، تاکنون از اصفهان و بصورت گسترده از شمال ایران (مازندران و گلستان) گزارش شده است (معصومی و همکاران ۱۳۸۲). این ویروس بطور طبیعی در قیاق وجود دارد و منبع ویروس می‌باشد (تولر، ۱۹۸۵). MDMV بطور مکانیکی در آزمایشگاه و بطور طبیعی با بیش از ۵۰ گونه شته بصورت ناپایا منتقل می‌شود و در ذرت انتقال آن با بذر نیز گزارش شده است (نوک و لویی ۱۹۸۱، فورد و همکاران ۱۹۸۹).

BgSMV در ابتدا روی مرغ در منطقه جیرفت مشاهده گردید سپس وجود آن در تمام مناطق جنوبی کشور مانند استان‌های بوشهر، کرمان، خوزستان و جنوب فارس مورد تأیید قرار گرفت (معصومی و ایزدپناه ۱۳۸۱ب). عامل اصلی مولد موزائیک در گیاه رشدی (*Eleusine compressa*) که در استان بوشهر تحت عنوان ویروس موزائیک رشدی (*Goose grass mosaic virus*) شناخته شده بود (قاسمی و ایزدپناه ۱۳۷۷) نیز BgSMV تشخیص داده شد. تاکنون وجود این ویروس بطور طبیعی روی گیاهان مرغ، رشدی و ذرت گزارش شده است (معصومی و همکاران، ۲۰۱۱).

براساس مطالعات مولکولی این ویروس به ترتیب با MDMV، ویروس موزائیک سورگوم (Sorghum mosaic virus, SrMV) و SCMV بیشترین قرابت را دارد (معصومی و ایزدپناه، ۱۳۸۱ب). نتایج حاصل از مقایسه سرولوژی، مولکولی، دامنه میزبانی و ناقل نشان داده است که MDMV و BgSMV شباهت زیادی به هم دارند ولی BgSMV بدلیل داشتن یک قطعه نوکلئوتیدی ۹۰ تایی بیشتر از MDMV در ناحیه ۵ ژن CP، عدم انتقال با شته *Rhopalosiphum maidis* و آلوده نکردن قیاق با MDMV متفاوت می‌باشد (زارع و همکاران، ۲۰۰۵a).

IJMV اولین بار در سال ۱۳۶۱ توسط ایزدپناه در قیاق از شیراز گزارش شد. این ویروس قبلاً بعنوان سویه‌ای از SCMV و به نام Sugarcane mosaic virus-maize shiraz, SCMV-MS نامگذاری شده بود (افشاریفر و ایزدپناه، ۱۳۷۰الف). تحقیقات بعدی نشان داد SCMV-MS ارتباطی با گونه SCMV ندارد و از میان پوتی ویروس‌های گزارش شده از غلات تنها با ویروس موزائیک زآ (*zea mosaic virus, ZeMV*) از اسرائیل قرابت دارد و میزان تشابه آنها کمتر از حد تمایز بین گونه است و بنابراین به عنوان گونه جدید، IJMV نامیده شد (معصومی و ایزدپناه ۱۳۸۰). قیاق منبع اصلی این ویروس است و ذرت و سورگوم میزبان‌های زراعی آن می‌باشند (زارع و همکاران، ۲۰۰۵ a). این ویروس تقریباً در اکثر مناطق ایران وجود دارد و بومی ایران می‌باشد (معصومی و همکاران، ۲۰۱۱) و همانند MDMV توسط شته‌های *Rhopalosiphum maidis* و *Schizaphis graminum* به سورگوم منتقل می‌شود. میزبان افتراقی آن با MDMV گیاه ارزن مرواریدی است که در آن تکثیر نمی‌یابد (زارع و همکاران، ۲۰۰۵b).

ویژگی‌های سرولوژیکی و بیولوژیکی مثل دامنه میزبانی، دگرپادی و علائم شناسی از معیارهای مهم برای تمایز بین گونه‌ها و جدایه‌های پوتی ویروس‌ها می‌باشد (شوکلا و همکاران ۱۹۹۴). امروزه با پیشرفت روش‌های مولکولی، بیشتر سازمان ژنوم ویروس و بخصوص پروتئین پوششی (cp) و بخش ۳' ترجمه نشونده (UTR) برای تمایز آنها بکار می‌رود (ون ریگنمورتل و همکاران، ۲۰۰۰).

در بین روش‌های کنترل بیماری‌های گیاهی، دگرپادی علاوه بر حفاظت گیاهان در برابر ویروس‌های گیاهی در مزرعه، نیز برای بررسی ارتباط بین استرین‌های ویروس کاربرد دارد (متیوس، ۱۹۹۱). مکانیزم دگرپادی^۱ تنها بین ویروس‌های مرتبط با هم رخ می‌دهد و پدیده‌ای است که به

موجب آن آلودگی اولیه^۱ با نژاد خفیف^۲ یا نژاد ناپرآزار^۳ یک ویروس منجر به حفاظت گیاه در برابر آلودگی ثانویه^۴ یا نژاد شدید یا پرآزار^۵ همان ویروس می‌گردد (متیوس، ۱۹۹۱). این پدیده اولین بار توسط مک کینی (۱۹۲۹) در مورد سویه‌های خفیف و شدید TMV روی توتون مشاهده شد. یکی از آزمون‌های موفق دگرپادی بررسی روابط استرین‌های SCMV می‌باشد. ویروس‌های موزائیک نیشکر (SCMV)، موزائیک کوتولگی ذرت (MDMV)، موزائیک قیاق (JGMV) و موزائیک سورگوم (SrMV) قبلاً بعنوان استرین‌های SCMV در نظر گرفته شده بودند. بعداً براساس آنالیزهای سرولوژیکی، دامنه میزبانی و اطلاعات مولکولی مشخص شد که ویروس‌های مستقلی می‌باشند (توسیک و همکاران، ۱۹۹۰). این نتیجه همچنین با نتایج حاصل از بررسی رابطه دگرپادی بین ویروس‌های ذکر شده تأیید شد، بدین صورت که هیچ رابطه دگرپادی بین ویروس‌ها وجود نداشت (کریستیک و همکاران، ۱۹۹۵). تاکنون رابطه تاکسونومیکی MDMV و BgSMV به طرق مختلف بررسی شده است. به دلیل شباهت بسیار زیاد و وجود تفاوت‌های اساسی بیولوژیکی و مولکولی امکان تمایز کامل این دو ویروس میسر نشده است. هدف از این تحقیق بررسی رابطه دگرپادی بین این دو ویروس بوده است تا در تاکسونومی دو ویروس کمک کند. همچنین روابط این دو ویروس با IJMV بعنوان شاهد مورد مطالعه قرار می‌گیرند.

-
- 1 - protecting infection
 - 2 - mild
 - 3 - avirulent
 - 4 - Challenging infection
 - 6 - virulent

فصل دوم

بررسی منابع

١-٢- تیره Potyviridae

پوتی‌ویریده بزرگترین و از لحاظ اقتصادی مهمترین تیره ویروس‌های گیاهی است. این تیره داری ٢٠٠ گونه است که نزدیک به ٢٥ درصد کل ویروس‌های گیاهی است و تقریباً در همه محصولات بیماری ایجاد می‌کند (شوکلای و همکاران، ١٩٩٤).

پیکره‌های رشته‌ای ماریپیچی و بدون پوشش آنها با طولی تقریباً ٧٥٠ نانومتر و ژنوم آر. ان. آی تک رشته‌ای مثبت با طول تقریبی ١٠ kb هستند. ژنوم دارای یک VPg^١ متصل با پیوند کوالانسی در انتهای ٥ است. این تیره دارای یک چارچوب ژنی^٢ (ORF) بزرگ، که یک پروتئین مرکب را کد می‌کند و همچنین یک ORF کوچک هستند که با ORF اصلی همپوشانی دارد و در دو انتهای این ORF نواحی ترجمه نشونده^٣ (UTR) قرار دارد (شوکلای و همکاران، ١٩٩٤).

طبقه بندی آنها براساس نوع ناقل، دامنه میزبانی، ظهور علائم، سرولوژی پروتئین کپسید، الگوهای تجزیه پروتئاز، همچنین مرفولوژی و سرولوژی اندامک‌های ویژه درون یاخته‌ای است (شوکلای و همکاران، ١٩٩٤). با پیشرفت تکنولوژی توالی آمینواسیدها و نوکلئوتیدها بویژه پروتئین پوششی^٤ cp برای مقایسه ویروس‌ها استفاده می‌شوند (وارد و همکاران، ١٩٩٢).

تیره پوتی‌ویریده همراه با تیره‌های Caliciviridae و Comoviridae، Sequiviridae، Picornaviridae از گروه شبه پیکورنا هستند. ویروس‌های شبه پیکورنا شامل بسیاری از ویروس‌های آلوده‌کننده انسانی هستند که سازمان ژنومی و گاهی پروتئین‌های رپلیکاز مشابهی دارند (گلدباچ، ١٩٨٦). در این گروه تیره پوتی‌ویریده شامل هفت جنس زیر است: Potyvirus، Macluravirus، Bymovirus، Rymovirus، Tritimovirus، Susmovirus و Impomovirus. انتقال Potyvirus و Macluravirus با شته، Rymovirus و Tritimovirus با کنه و Impomovirus و Bymovirus با سفید بالک و قارچ‌ها می‌باشد. پیکره همه جنس‌ها رشته‌ای ماریپیچ و بدون پوشش و ژنوم آنها تک بخشی، به جز Bymovirus که دو بخشی است (ون ریگنمورتل و همکاران، ٢٠٠٠، زو و همکاران ٢٠١٠).

1- Viral genome-linked protein

2- open reading frame

3- untranslated region

4- coat protein

با توجه به اهمیت اقتصادی جنس پوتی ویروس مطالعات وسیع تری در سطح جهان روی آنها انجام شده است (ریورس و کاندریس، ۲۰۰۴).

۲-۲- جنس Potyvirus

۲-۲-۱- ساختار مولکولی

امروزه با پیشرفت روش‌های خالص‌سازی و روش‌های تجزیه و تحلیل نوکلئیک اسید و پروتئین پوتی ویروس‌ها، در توصیف ساختار پوتی ویروس‌ها و تعیین خصوصیات آنها در سطح مولکولی مطالعات زیادی صورت گرفته است (هول ۲۰۰۲، شوکلا و وارد ۱۹۸۹a).

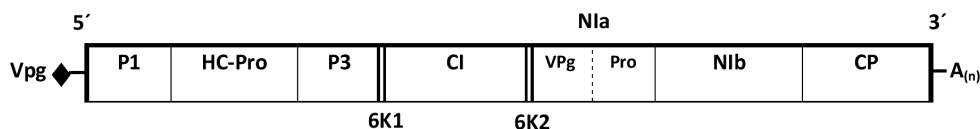
آن. ای پوتی ویروس‌ها همانند سایر جنس‌های پوتی‌ویریده، در انتهای ۳ دارای پلی آ و یک VPg نیز به وزن مولکولی 24×10^3 دالتون می‌باشد که بطور کوالانسی به انتهای ۵ آر. آن. ای متصل شده است. همچنین یک ناحیه ترجمه نشونده در انتهای ۳ ژنوم وجود دارد که شباهت زیادی در میان اعضای یک گونه دارد و وجه تمایز گونه‌های مختلف پوتی ویروس می‌باشد (فرینکل و همکاران، ۱۹۹۲). انتهای آمینی^۱ ژن cp در پوتی ویروس‌ها یکی از متنوع‌ترین بخش‌های ژنوم ویروس است که برای سازگاری ویروس به میزبان مهم است (یولاه، ۲۰۰۳).

مکانیزم سنتز پروتئین در پوتی ویروس‌ها بصورت ترجمه ژنوم به یک پلی پروتئین^۲ با وزنی در حدود ۳۰۰ کیلو دالتون می‌باشد که توسط سه آنزیم پروتئاز، سرین، سیستئین و شبه سرین که توسط خود ویروس سنتز می‌شود، بریده شده و به ۹ تا ۱۰ پروتئین کوچکتر تبدیل می‌شود (هول، ۲۰۰۲).

پروتئین پوششی که ژنوم ویروس را پوشش می‌دهد، پروتئین کمکی^۳ که در انتقال توسط شته نقش دارد و پروتئین اندامک ویژه هسته‌ای که یک پروتئاز است از زیر واحدهای این پروتئین مرکب هستند که نقش قطعی آنها مشخص شده است (برگر و پیرون ۱۹۸۶، تورنیوری و پیرون ۱۹۸۳).

CI^۴ یا اندامک ویژه سیتوپلاسمی در انتقال سلول به سلول نقش دارد. احتمال می‌رود که پروتئین اندامک سیتوپلاسمی در تکثیر ویروس نیز نقش داشته باشد. N1b یک پلی مرز RNA و N1a یک پروتئیناز می‌باشد (کارینگتن و دوئورتی، ۱۹۸۸؛ هول، ۲۰۰۲).

-
- 1- N-terminal
 - 2- poly protein
 - 3- helper protein
 - 4- cytoplasmic inclusion protein



شکل ۲-۱ سازمان ژنوم پوتی ویروس‌ها و موقعیت ژن‌های ویروس در پلی پروتئین

پروتئین پوششی پوتی ویروس‌ها در بین گونه‌های مختلف این تیره دارای تنوع زیادی می‌باشد. شوکلا و همکاران (۱۹۹۲) معتقد بودند که خصوصیات ساختاری پروتئین پوششی پوتی ویروس‌ها معیار مناسبی برای تشخیص و طبقه‌بندی اعضاء این گروه می‌باشد و براساس تنوع ساختار پروتئین پوششی می‌توان ابهامات سرولوژیکی پوتی ویروس‌ها را مورد بررسی قرار داد.

در الکتروفورز پروتئین پوششی با استفاده از ژل پلی آکریل آمید دارای SDS (SDS-PAGE) ۱ یا ۲ باند با وزن مولکولی ۲۸ تا ۴۰ کیلو دالتون مشاهده می‌شود (گاغ و شوکلا، ۱۹۸۱؛ هیل و همکاران، ۱۹۷۳؛ موغال و فرانکی، ۱۹۷۶). علت مشاهده باندهای چندگانه در پوتی ویروس‌ها احتمالاً ناشی از تجزیه جزئی این پلی پپتیدها بوسیله آنزیم‌های پروتئولیتیک میزبان یا عوامل میکروبی باشد (هاتینگا و موش ۱۹۷۴، موغال و فرانکی ۱۹۷۶).

در ساختار سه بعدی پروتئین پوششی انتهای آمینی و انتهای کربوکسیلی^۱ رشته پلی پپتیدی در سطح پیکره قرار می‌گیرند. در ویروس‌های مختلف این جنس، ترادف پروتئینی ناحیه میانی رشته پلی پپتیدی^۲ تنوع کمتری دارد. اما طول و ترادف آمینواسیدی در انتهای آمینی ویروس‌های مختلف بسیار متفاوت است. این ناحیه در سویه‌های یک گونه بیش از ۹۰٪ شباهت دارد (موغال و فرانکی، ۱۹۷۶؛ وارد و شوکلا، ۱۹۹۱؛ شوکلا و وارد، ۱۹۸۸ و a ۱۹۸۹ و b).

پوتی ویروس‌ها اندامک‌های ویژه‌ای مثل اندامک‌های ویژه سیتوپلاسمی^۳ و اندامک‌های ویژه هسته‌ای^۴ در سلول‌های آلوده تولید می‌کنند که در تشخیص آنها کاربرد دارد. خصوصیت منحصر به فرد پوتی ویروس‌ها و وجه تمایز آنها از سایر گروه‌های ویروسی تشکیل اندامک‌های فرفره مانند^۵ در سیتوپلاسم آلوده می‌باشد (هالینق و برونن ۱۹۸۱).

-
- 1- C-terminal
 - 2- core region
 - 3- cytoplasmic inclusion bodies
 - 4- nuclear inclusion bodies
 - 5- pinwheel inclusion

۲-۲-۲- دامنه میزبانی، بقا و انتقال

پوتی ویروس‌ها در مناطق آب‌وهوایی مختلف، گیاهان تک لپه‌ای و دولپه‌ای را آلوده می‌کند (ویروس و کاندیس، ۲۰۰۴). بسیاری از گونه‌های پوتی ویروس‌ها از لحاظ دامنه میزبانی در طبیعت محدودند اما دارای دامنه میزبانی آزمایشگاهی نسبتاً وسیع هستند. برخی از پوتی‌ویروس‌ها محدود به تیره poaceae هستند و عده کمی مانند *Potato virus Y* تیره‌های *Chenopodiaceae*، *Solanaceae* و *Comelinaceae* ویروس‌های *Lettuce mosaic virus (LMV)* و *Bean yellow mosaic virus (BYMV)* به ترتیب ۸ و ۱۳ تیره گیاهی را آلوده می‌کنند (بوس، ۱۹۹۹).

این ویروس قادر به پایداری در برگ‌های مرده و بقایای گیاهی نیستند (هالیتق و برون، ۱۹۸۱). انتقال پوتی‌ویروس‌ها با شته بصورت ناپایا، مکانیکی و در برخی موارد با بذرها می‌باشد. در *SCMV* انتقال از طریق خاک نیز گزارش شده است (بون و پیرون، ۱۹۷۱، فورد و همکاران، ۱۹۸۹). میزان انتقال پوتی‌ویروس‌های مختلف غلات به وسیله بذر از صفر تا ۰/۴ درصد گزارش شده است (وایت، ۱۹۹۹). در انتقال ویروس با شته دو عامل پروتئین پوششی و پروتئین کمکی (*helper component*) که توسط ژنوم ویروس کد می‌شوند نقش اساسی دارند (آتريا و همکاران، ۱۹۹۵). برای انتقال با شته یک طرح یا موتیف^۱ آمینو اسیدی حفاظت شده *Asp-Ala-Gly (DAG)* که در نزدیکی انتهای آمینی *CP* قرار دارد ضروری می‌باشد (برگر و پیرون، ۱۹۸۶). در بعضی پوتی‌ویروس‌ها به جای طرح *DAG* طرح‌های دیگری مانند *DAS* در *Pea seed born mosaic virus (PSBMV)*، *DAA* در *Peanut mottle virus (PeMoV)*، *DAL* در *Plum pox virus (Lopez-Moya et al. 1999)* و *DVG* در *ZeMV* و *IJMV* وجود دارد (سیفرز و همکاران، ۲۰۰۰).

۲-۲-۳- معیارهای مهم در طبقه‌بندی پوتی‌ویروس‌ها

به دلیل تعداد زیاد اعضای این گروه، تنوع بین ویروس‌های این جنس و نیز فقدان معیارهای مناسب برای تشخیص گونه‌ها از استرین‌ها، تشخیص و گروه بندی پوتی‌ویروس‌ها تا قبل از سال ۱۹۸۸ (وارد و شوکلا) دشوار و نامناسب بود (فرانکی، ۱۹۸۳؛ فرانکی و همکاران، ۱۹۸۵؛ شوکلا و وارد، ۱۹۸۸). قبلاً ویژگی‌های سرولوژی و بیولوژیکی مثل دامنه میزبانی، علائم شناسی و دگرپادی از معیار مهم برای تمایز بین گونه‌ها و جدایه‌های پوتی ویروسها محسوب می‌شدند (شوکلا و همکاران، ۱۹۹۴).

براساس مطالعات هالینق و برون (۱۹۸۱) رابطه سرولوژیکی بین اعضای متفاوت جنس پوتی ویروس کاملاً پیچیده و گاهی غیر قابل اعتماد است. عدم هماهنگی اطلاعات اولیه سرولوژیک، تنها با درک صحیح از ساختمان پروتئین پوششی در این گروه قابل توجیه است (شوکلای و همکاران، ۱۹۸۸). ولی با وجود مشکلات و نواقص در روش‌های سرولوژیک، این روش‌ها بدلیل سادگی، کارآمدی، قابل تکرار و ارزان بودن بیش از سایر روش‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند (شوکلای و همکاران، ۱۹۸۸a,b). با توجه به شباهت ترادف نوکلئوتیدی ناحیه میانی، آنتی سرم‌های چند همسانه‌ای به خوبی قادر به تفکیک پوتی ویروس‌های غلات نمی‌باشند (شوکلای و وارد، ۱۹۸۹b).

در حالیکه آنتی سرم‌های چندهمسانه‌ای ممکن است با ۲، ۳، ۴ و یا حتی پوتی ویروس‌ها واکنش نشان دهد (شوکلای و وارد، ۱۹۸۹b). این روش برای تشخیص و بررسی ویروس‌های گیاهی به منظور تعیین میزان شباهت اعضای مختلف گروه، روش مناسبی است. با بررسی آنتی بادی‌های تک همسانه‌ای به طور منفرد می‌توان به اطلاعات مطلوبی در مورد خصوصیات ساختمانی ویروس، مانند تعیین موقعیت اپی‌توپ‌های اختصاصی در پوتی ویروس‌ها دست یافت (جردن و هاموند ۱۹۸۷ و ۱۹۸۸ و ۱۹۹۱).

استفاده از دامنه میزبانی و علائم برای تشخیص پوتی ویروس‌ها زمانی که خصوصیات بیوشیمیایی آنها در دست است و هدف یافتن میزبان افتراقی می‌باشد، بسیار مفید و مؤثر می‌باشد (شوکلای و وارد، ۱۹۸۹b). به عنوان مثال سیفرز و همکاران با استفاده از گیاهان یولاف، قیاق، ارزن مرواریدی و تعدادی از ارقام تجاری سورگوم پوتی ویروس‌های غلات را تفکیک نمودند (سیفرز و همکاران، ۲۰۰۰). اندامک‌های ویژه درون سلولی از تجمع پروتئین‌های حاصل از ترجمه ژنوم ویروس، تشکیل شده است (آلیسون و همکاران، ۱۹۸۶). بنابراین تنوع در ساختمان این اندامک‌ها، اختلاف در ساختمان اولیه پروتئین و در نتیجه تفاوت در ترادف ژنوم را نشان می‌دهد. کریستی و ادواردسون (۱۹۹۱) برخی اعضای پوتی ویروس را براساس نوع اندامک ویژه‌ای که در سلول‌های آلوده تولید می‌کنند به ۴ زیر گروه تفکیک کرده‌اند:

زیرگروه I: ایجادکننده تیپ ۱ از اندامک‌های ویژه که عبارتند از اندامک‌های فرفره‌ای و طومار مانند^۱
 زیرگروه II: ایجادکننده تیپ ۲ از اندامک‌های ویژه که عبارتند از اندامک‌های فرفره‌ای و توده‌های لایه‌ای^۲

1- scrolls

2- laminated aggregate