

گزارش علمی کوتاه

اولین گزارش از وقوع ویروس جزیرای پیچیدگی برگ پنبه و بتاستلایت همراه آن از

گیاهان ختمی، بامیه و آفتاب گردان در ایران*

خدیجه سالاری^{1*}، جهانگیر حیدرنژاد^۲، حسین معصومی^۲ و وحید حسنونند^۱

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۵/۲۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۷/۲۰)

جنس *Begomovirus* بزرگترین جنس در خانواده *Geminiviridae* است. اعضای این جنس، باعث ایجاد بیماری‌های اقتصادی مهمی در گیاهان دولپه در نواحی گرمسیری و نیمه گرمسیری می‌شوند. ژنوم آن‌ها دی ان ای حلقوی به صورت تک لای یک‌بخشی و یا دوبخشی شامل DNA-A و DNA-B می‌باشد و در طبیعت توسط سفیدبالک *Bemisia tabaci* به روش پایا-گردشی منتقل می‌شوند (Brown et al. 2012). در این مطالعه، یک نمونه ختمی با علائم مشکوک به آلودگی بگوموویروس‌ها شامل کوتولگی، بدشکلی و پیچیدگی شدید برگ (شکل ۱) از شهرستان جیرفت (استان کرمان) جمع‌آوری گردید و استخراج دی ان ای کل به روش CTAB، براساس دستورالعمل ارائه شده توسط ژانگ و همکاران انجام شد (Zhang et al. 1998). آلودگی این نمونه با روش توالی‌یابی نسل جدید (next generation sequencing, NGS) مورد بررسی قرار گرفت. خوانش‌های کوتاه بدست آمده با استفاده از نرم افزار ABYSS 2.2 در کنار هم قرار داده شد و با ترادف‌های موجود در بانک جهانی ژن مورد مقایسه قرار گرفت. پس از واکاوی اطلاعات NGS، ویروس جزیرای پیچیدگی برگ پنبه (cotton leaf curl Gezira betasatellite) و (cotton leaf curl Gezira virus, CLCuGV) مرتبط با آن از نمونه ختمی بازیابی شد. به منظور تأیید ترادف بدست آمده، ژنوم کامل ویروس و بتاستلایت همراه به روش دایره غلتان و با استفاده از کیت آرسی (TempliPhi, GE Healthcare, USA) و روش ارائه شده توسط شپرد و همکاران (Shepherd et al. 2006) تکثیر و سپس همسانه‌سازی و تعیین ترادف گردید. نتایج حاصل از تعیین ترادف، آلودگی گیاه ختمی به ویروس جزیرای پیچیدگی برگ پنبه و بتاستلایت مرتبط به آن را تأیید کرد. بر این اساس، طول ژنوم جدایه ایرانی این ویروس و بتاستلایت همراه، به ترتیب ۲۷۶۱ و ۱۳۵۵ نوکلئوتید بدست آمد. مقایسه میزان شباهت اسید نوکلئیک جدایه ایرانی ویروس و بتاستلایت همراه، با جدایه‌های منتخب از بانک ژن نشان داد که میزان شباهت آن‌ها به ترتیب ۸۶/۲-۹۴/۲ و ۸۲/۰۵-۹۶/۵ درصد می‌باشد. به منظور شناسایی سایر میزبان‌های ویروس جزیرای پیچیدگی برگ پنبه، یک نمونه آفتاب گردان با علائم

* قسمتی از پایان نامه دکتری نگارنده اول به دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان.

** مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: khadijeh.salari@ujiroft.ac.ir

۱. دانشجوی دکتری بیماری شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان.

۲. استاد بخش گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان.



شکل ۱- گیاه ختمی با علائم بدشکلی و پیچیدگی شدید برگ جمع آوری شده از شهرستان جیرفت (استان کرمان).

Fig. 1. Marshmallow sample showing severe crinkling and leaf curling collected in Jiroft (Kerman Province).

شدید چروکیدگی و فنجانی شدن برگ از یک مزرعه در دزفول استان خوزستان و پنج نمونه بامیه با علائم پیچیدگی شدید برگ از گلخانه‌ها و مزارع جیرفت استان کرمان جمع‌آوری شد. پس از استخراج دی‌ان‌ا، آلودگی نمونه‌های فوق به CLCuGV با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراس و جفت آغازگر اختصاصی CLCuGV-F و CLCuGV-R اثبات گردید و یک قطعه ۷۳۰ جفت بازی تکثیر شد. وجود بتاستلایت همراه با CLCuGV در نمونه‌های بامیه و آفتاب‌گردان نیز با همسانه سازی و تعیین ترادف محصول آر سی اثبات گردید. به نظر می‌رسد، با توجه به شرایط اقلیمی خاص یعنی داشتن آب و هوای گرمسیری و نیمه گرمسیری، ایران یکی از کانون‌های اصلی شیوع بگوموویروس‌هاست. بررسی بیشتر جهت تعیین میزان پراکنش این ویروس در سایر نقاط کشور، شناسایی دیگر میزبان‌های این ویروس، اثبات بیماریزایی ویروس و مطالعه ساختار ژنوم آن در دست انجام می‌باشد. این اولین گزارش از وجود ویروس جزیرای پیچیدگی برگ پنبه و بتاستلایت همراه با آن در ایران می‌باشد.

واژگان کلیدی: بگوموویروس، ویروس جزیرای پیچیدگی برگ پنبه، بتاستلایت

First report of cotton leaf curl Gezira virus incidence and the associated betasatellite from marshmallow, okra and sunflower in Iran

K. Salari¹, J. Heydarnejad², H. Massumi², and V. Hasanvand¹

(Received: 19.8.2020; Accepted: 11.10.2020)

The genus *Begomovirus* is the largest genus of the family *Geminiviridae*. Begomoviruses cause economically important diseases on dicotyledonous plants mainly in the tropical and subtropical regions worldwide. Their genomes are either mono- or bipartite circular ssDNAs (DNA-A and DNA-B) and all of them are transmitted by whitefly *Bemisia tabaci* in a persistent circulative manner (Brown *et al.* 2012). In this research, a common marshmallow (*Malva* sp.) plant sample with the begomovirus-like symptoms including crinkled and curling leaves (Fig. 1) was collected in Jiroft (Kerman province, south-eastern Iran). Total DNA was extracted using the CTAB method according to Zhang *et al.* (1998) and subjected to next generation sequencing approach. Short read sequences were assembled using ABySS 2.2 software and compared to GenBank sequences. Sequence analysis of NGS data indicated that the common marshmallow sample infected with the cotton leaf curl Gezira virus (CLCuGV) and cotton leaf curl Gezira betasatellite. To confirm the sequence data, the full-length genome of CLCuGV and the associated betasatellite were amplified using rolling circle amplification method and the RCA kit (TempliPhi, GE Healthcare, USA) as described by Shepherd *et al.* (2006) followed by cloning and Sanger sequencing of ~3kb amplicon. Sequence data indicated that genomes of the Iranian CLCuGV isolate and the associated betasatellite are 2761 and 1355 nts in length and share 86.2-94.2 % and 82.05-96.5% nucleotide sequence identities with the corresponding sequences of GenBank isolates, respectively. To identify other CLCuGV hosts, a sunflower sample showing severe crinkling and cup-shaped leaves and five okra samples with severe leaf curl symptom were collected from greenhouse and/or open farms in Jiroft and Dezful (Khuzestan province), respectively. DNAs of samples were extracted and subjected to PCR assay using a specific primer pair (CLCuGV-F/CLCuGV-F) followed by detection of 730 bp in length amplicon. The betasatellite DNAs associated with the okra and sunflower samples were detected by RCA and sequencing of the resulted amplicons. It seems that due to special climatic conditions, i. e., having tropical and subtropical climatic conditions, Iran is one of the main centers of the prevalence of begomoviruses. Further studies including geographical distribution of the virus in other parts of the country, identification of other hosts, demonstration of the pathogenesis and study of the CLCuGV genome are in progress. This is the first report of the presence of CLCuGV and the associated betasatellite in Iran.

Keywords: *Begomovirus*, cotton leaf curl Gezira virus, betasatellite.

منابع

Brown J.K. Fauquet C.M. Briddon R.W. Zerbini M. Moriones E. & Navas-Castillo J. 2012. Geminiviridae. pp 351–373. In: A.M.Q. King, M.J. Adams, E.B. Carstens and E.J. Lefkowitz (Eds). Virus taxonomy:

* Corresponding author's email: khadijeh.salari@ujiroft.ac.ir

1. PhD student of Plant Pathology, College of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.
2. Professor of Plant Pathology, College of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

classification and nomenclature of viruses: ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier Academic Press, San Diego, USA.

Shepherd D.N. Martin D.P. Lefevre P. Monjane A. L. Owor B.E. Rybicki E.P. & Varsani A. 2008. A protocol for the rapid isolation of full geminivirus genomes from dried plant tissue. *Journal of Virological Methods* 149: 97-102.

Zhang Y.P. Uyemoto J.K. & Kirkpatrick B.C. 1998. A small-scale procedure for extracting nucleic acids from woody plants infected with various phytopathogens for PCR assay. *Journal of Virological Methods* 71: 45-50.