ژنتیک نوین
دوره پانزدهم، شماره ۱، بهار ۱۳۹۹
صفحه ۴۷-۴۱

بررسی بیوانفورماتیکی پروتئین همولوگ شوک حرارتی جدایه‌های ایرانی ویروس زردی کلروتیک کدوئیان (*Cucurbit chlorotic yellows virus*) در افزایش تفاوت ژنتیکی

Bioinformatics study on the role of homolog heat shock protein 70 gene of Iranian isolates of *Cucurbit chlorotic yellows* virus in increasing genetic variation

زهرا صادقی[۱]، سعید نصرالله نژاد*[۱]، میلاد لگزیان[۲]، سید اسماعیل رضوی[۱]، مجید جعفری[۳]

۱- به‌ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار، استادیار، گروه گیاهپزشکی دانشگاه علوم کشاورزی ومنابع طبیعی گرگان

۲- استادیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه سیستان و بلوچستان زاهدان

۳- استادیار، گروه گیاهپزشکی، مجتمع عالی سراوان

Sadeghi Z[1], Nasrollanejad S*[1], Lagzian M[2], Razavi SE[1], Jafari M[3]

1. PhD Student, Associate Professor, Assistant Professor, Department of Plant Protection, Gorgon University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Biology, University of Sistan and Baluchestan, Iran.
3. Assistant Professor, Department of Plant Protection, Higher Educational Complex of Saravan, Iran.

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Snasrollanejad1967@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۹۸/۰۳/۰۴ - تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۹/۲۷)

چکیده

پروتئین شوک حرارتی در کلسترووویروس‌ها نقش‌های متعددی به‌ویژه حرکت سلول -به -سلول را برای ایجاد آلودگی سیستمیک بر عهده دارد. در پژوهش حاضر، تفاوت ژنتیکی ژن همولوگ پروتئین شوک حرارتی (*HSP70h*) جدایه‌های ایرانی ویروس زردی کلروتیک کدوئیان و همچنین فشار انتخاب وارد شده بر آن‌ها بررسی شد. به این منظور تعداد ۱۹۵ نمونه با علایم زردی، کوتولگی و بدشکلی برگ‌ها از مزارع کدوئیان استان سیستان و بلوچستان جمع‌آوری و با استفاده از آغازگرهای اختصاصی، از منطقه ژنتیکی پروتئین همولوگ شوک حرارتی ویروس CCYV قطعه‌ای به‌طول ٤٦٢ جفت‌باز برای ۱۵ نمونه توسط روش RT-PCR تکثیرشد و ۷ جدایه مورد بررسی فیلوژنتیکی قرار گرفت. نتایج به‌دست آمده نشانگر آلودگی ۷ درصد نمونه‌ها به ویروس زردی کلروتیک کدوئیان در مناطق مورد بررسی بود. آنالیزفیلوژنی توالی‌های نوکلئوتیدی و اسید آمینه‌ای جدایه‌های CCYV را به دو گروه ایرانی و شرق آسیا تقسیم نمود و جدایه‌های سیستان و بلوچستان در دو شاخه مجزا قرارگرفتند. هم‌ردیفی توالی اسیدآمینه فرضی پروتئین همولوگ شوک حرارتی و مطالعات فشار انتخاب بر روی ۷ جدایه موجود در تحقیق با ۳ جدایه ایرانی و جدایه‌های خارجی این ویروس نشان داد که ژن *HSP70h* در جدایه‌های ایرانی و سایر جدایه‌های این ویروس تحت فشار انتخاب مثبت در کدون ۸۲ قرار دارند که منجر به تغییر یک اسید نوکلئیک (CTC به TTC) به‌ترتیب برای جدایه‌های مرکزی و جدایه‌های زابل، هیرمند و نیمروز در موقعیت ۲٤٤ شده و اسید آمینه لوسین به فنیل آلانین در پروتئین همولوگ شوک حرارتی تغییر نموده است. نتایج نشان‌دهنده وجود جدایه‌های متنوع ویروس CCYV در کشور بوده و تفاوت در توالی نوکلئوتیدی و اسیدآمینه‌ای می‌تواند حاکی از تفاوت در منشا میزبانی باشد بنابراین فشار انتخاب در تنوع ژنتیکی جدایه‌ها دخالت داشته است.

واژه‌های کلیدی

اسید آمینه فنیل آلانین
پروتئین همولوگ شوک حرارتی (HSP70h)
فیلوژنی
فشار انتخاب مثبت
CCYV

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-28]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.1.1.2]

مقدمه

استان سیستان و بلوچستان پس از استان کرمان به‌عنوان دومین استان پهناور کشور در جنوب شرقی ایران واقع است. این استان با حدود ۱۸۰,۷۲۶ کیلومتر مربع وسعت کمابیش اندازه کشور سوریه بزرگی دارد و بیش از ۱۱ درصد وسعت ایران را دربرمی‌گیرد و با سطح زیرکشت ۲۳۸۹٤ هکتار و میزان تولید ۵۳۲۹۸۱ تن رتبه پنجم را از نظر تولید محصولات جالیزی و مقام اول تولید هندوانه خارج فصل را در کشور را به خود اختصاص داده است (Ahmadi et al. 2017).

ویروس زردی کلروتیک کدوئیان (*Cucurbit chlorotic yellows virus*, CCYV) عضو جنس *Crinivirus* از خانواده *Closteroviridae* می‌باشد (Okuda et al. 2010). در ابتدا در خربزه در ژاپن و همراه با بیماری زردی کدوییان گزارش شد (Gyoutoku et al. 2009). ژنوم آن دو بخشی شامل ۸٦۰۷ و ۸۰٤۱ عدد نوکلئوتید به‌ترتیب برای RNA1 و RNA2 می‌باشد. RNA1 پروتئین‌های دخیل در تکثیر را رمزگذاری می‌کند، در حالی که RNA2 ژن‌های دخیل در حرکت و انتقال توسط سفید بالک *Bemisia tabaci* را کدگذاری می‌کند (Orfanidou et al.2017). این ویروس به روش نیمه پایا توسط بیوتیپ‌های Q و B سفید بالک *B. tabaci* منتقل می‌شود (Li et al. 2016). ویروس CCYV در کشورهای خاورمیانه (لبنان) و آسیایی (چین، ژاپن و تایوان) و همچنین در منطقه مدیترانه گزارش شده است (Gu et al. Al-Saleh et al. 2015; Bananej et al. 2013; 2011; Hamed et al. 2011; Huang et al. 2010; Okuda et al. 2010). علائم برروی کدوییان شامل: شکنندگی، ضخامت و زردی میانی برگ‌ها که معمولا بر روی برگ‌های پایین مشخص‌تر است اما به تدریج در شاخ و برگ‌های جدید گسترش می‌یابد و علایم آن قابل تشخیص از سایر کرایئی ویروس‌ها مانند CYSDV وBPYV و یا پولروویروس_ها (CABYV وPABYV) نیست. در ایران این ویروس اولین بار در سال۱۳۹۲ از کدوئیان مناطق مرکزی ایران گزارش شد (Bananej et al. 2013). این ویروس نه تنها قادر به آلوده کردن اعضاء خانواده کدوئیان است بلکه گونه‌های حداقل چهار خانواده *Asteraceae*، *Chenopodiaceae*، *Convolvulaceae* و *Solanaceae* میزبان‌های آزمایشی این ویروس هستند (Okuda et al. 2010). ویروس CCYV در اکثر مناطق مرکزی (تهران و سمنان) و جنوبی کشور شناسایی شده (Bananej et al. 2013; Keshavarz et al. 2013) اما در منطقه جنوب شرق تاکنون بررسی جامعی صورت نگرفته است.

مواد و روش‌ها

طی سال‌های ۹۵ -۱۳۹٦، از ۵۳ مزرعه جالیز مربوط به محصولات مختلف کدوئیان شامل: هندوانه، خربزه، طالبی، کدو حلوایی و کدو مسمایی در دوازده شهرستان استان سیستان و بلوچستان با شرایط آب و هوایی متفاوت و وسعت زیاد مانند: هامون، نیمروز، زابل، زهک، هیرمند، زاهدان، سراوان، ایرانشهر، کنارک، چابهار، سرباز و نیکشهر تعداد ۱۹۵ نمونه برگ با علایم شبیه به آلودگی‌های ویروسی شامل: زردی، شکنندگی، تردی، زردی رگبرگ و کوتولگی بوته‌ها، جمع‌آوری و برای آزمایش‌های مولکولی به آزمایشگاه منتقل شد. نمونه‌های برگ با استفاده از کیت NucleoSpin® RNA (شرکت Macherey-Nagel، آلمان) و مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده استخراج شد. برای سنتز cDNA از آغازگر عمومی شش نوکلئوتیدی تصادفی و مستر میکس cDNA (SuPrimeScript RT Premix) (شرکت GeNet Bio، کره) در واکنشی با حجم نهایی ۳۰ میکرولیتر استفاده شد. واکنش سنتز cDNA برای هر نمونه، ۱ میکرولیتر از آغازگر (Random Hexamer) (10 pmol) با ۲ میکرولیتر از آر ان ای کل (200 ng/µl) و ۱۵ میکرولیتر از مستر میکس به‌همراه ۱۲ میکرولیتر آب دیونیزه تهیه شد. برنامه سنتز cDNA شامل یک چرخه دمای ۲۵°C به مدت ۱۰ دقیقه، یک چرخه ۵۰°C به مدت یک ساعت برای فعالیت آنزیم نسخه بردار معکوس و یک چرخه در درجه حرارت ۷۰°C به مدت ده دقیقه برای غیر فعال کردن این آنزیم اجرا شد. در مرحله بعد تکثیر PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر حاوی ۱۲/۵ میکرولیتر مسترمیکس (شرکت سیناکلون، ایران)، یک ماکرولیتر از هر کدام آغازگرهای CCYV-F پیش رونده و پس رونده CCYV-R با غلظت (۱۰ pmol) منطبق بر بخشی از ژن پروتئین همولوگ شوک حرارتی به‌ترتیب با توالی‌های 5′- TGCGTATGTCAATGGTGTTATG-3′ و

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-28]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.1.1.2]

5′- ATCCTTCGCAGTGAAAAACC -(Zeng et al. 2011) 3′، آب‌مقطر دیونیزه ۸/۵ میکرولیتر و دن ان ای مکمل ۲ میکرولیتر انجام شد. واکنش PCR با چرخه حرارتی شامل واسرشته‌سازی در دمای ۹۵°C به مدت ۵ دقیقه، اتصال در دمای ۵۸°C به مدت ٤٥ ثانیه و بسط در دمای ۷۲°C به مدت ٤٥ ثانیه و به تعداد ۳۵ چرخه در دستگاه ترموسایکلر (شرکت Biorad، آمریکا) انجام شد. قطعه تکثیر شده در الکتروفورز ژل آگارز یک درصد رویت و از اندازه باند ٤٦٢ جفت‌باز اطمینان حاصل شد. محصول PCR مستقیما همراه با آغازگرها برای تعیین توالی به شرکت بایونیر (کره جنوبی) ارسال شد. داده‌های نوکلئوتیدی حاصل، در پایگاه اطلاعاتی NCBI با برنامه BLASTn با ترادف‌های موجود در GenBank مقایسه و با استفاده از نرم‌افزار Clustal X (Thompson et al. 2002) هم‌ردیف‌سازی چندگانه جدایه‌های مختلف ویروس CCYV صورت گرفت (جدول ۱). درخت فیلوژنتیک این جدایه‌ها با استفاده از روش Maximum likelihood و مدل Tamura 3-parameter در نرم‌افزار (Kumar et al. 2016) Mega 7.0 و براساس ۱۰۰۰ تکرار (bootstrap)، ترسیم شد. از نرم‌افزار Dna SP version 6.12.03 برای محاسبه پارامترهای ژنتیک جمعیت استفاده شد. همچنین فشارهای انتخابی در سطح کدون بخشی از ژن HSP70h ویروس CCYV با استفاده از نرم‌افزار Hyphy version 2.2.4 و وبگاه Datamonkey به آدرس www.datamonkey.org با روش‌های (Fixed Effects Likelihood)، FEL (Mixed Effects Model of Evolution) MEME و (Single-Likelihood Ancestor Counting) SLAC تخمین زده شد.

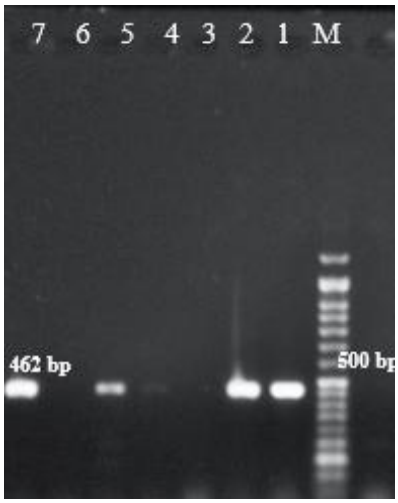
جدول ۱- شماره دسترسی، منشا (کشور) و میزبان‌های جدایه‌های مختلف CCYV موجود در بانک ژن NCBI و مورد استفاده برای تجزیه‌های تبارزایی و فشار انتخاب

شماره دسترسی در NCBI	منشا	میزبان	شماره دسترسی در NCBI	منشا	میزبان
KY400633	China	*Cucumis melo*	MH939359	Zabol (In this study)	*Cucumis melo var. canaloupensis*
JQ904629	China: Beijing	Cucumis	MH939358	Hirmand (In this study)	*Cucumis melo var. canaloupensis*
KC559449.1	Iran: Semnan	*Cucumis sativus*	MH939357	Hamon (In this study)	*Cucumis melo var. canaloupensis*
KC559451.1	Iran: Tehran	*Cucumis sativus*	MH939356	Nimruz (In this study)	Watermelon
KC559450.1	Iran: Semnan	*Cucumis melo*	MH939355	Hirmand (In this study)	*Cucumis melo*
HM581659.1	China: Ningbo	*Cucumis sativus*	MH939360	Zahak (In this study)	*Cucumis melo var. canaloupensis*
HQ148667.1	China	*Cucumis melo*	MH660532	Konark (In study)	*Cucumis melo var. cantalupo*
HM120250.1	Taiwan: Yunlin	*Cucumis melo*	KU507602	China: Henan	-
NC_018174	Japan:Kumamoto	*Cucumis melo*	JF502222.1	Taiwan: Yilan	*Cucumis melo*
AB523789	Japan:Kumamoto	*Cucumis sativus*	JN126046.1	Taiwan: Yilan	muskmelon
GU721110.1	China: Ningbo	*Cucumis sativus*	JX014263.1	Lebanon	Cucumis sativus
KY400632.1	China	melon			

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-28]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.1.1.2]

نتایج

نتایج بررسی‌های مولکولی روی نمونه‌های گیاهی (هندوانه، خربزه، طالبی، کدومسمایی وکدو حلوایی) مشکوک به بیماری ویروسی نشان داد؛ ۱۱٦ نمونه از ۱۹۵ نمونه آلوده به ویروس‌های شایع کدوئیان از قبیل: ویروس شته زاد کدوئیان (CABYV)، ویروس اختلال کوتولگی زردی کدوئیان (CYSDV)، ویروس زردی رگبرگ خیار (CVYV) و ویروس کوتولگی سبزرد هندوانه (WmCSV) بودند و قطعه‌ای به اندازه‌ی ٤٦۲ جفت‌باز از ناحیه HSP70h در ۱۵ نمونه (جدول ۲) با استفاده از آغازگرهای اختصاصی CCYV تکثیر شد (شکل۱). پس از تعیین توالی و نتایج BLASTn، مشخص شد؛ قطعات تکثیر شده در آرتی- پی سی آر مربوط به بخشی از ژن HSP70h ویروس CCYV می‌باشند و جدایه MH939357 جداشده از گیاه طالبی بیشترین شباهت در سطح نوکلئوتیدی و آمینواسیدی (۱۰۰ درصد) با جدایه‌های (MH93958 وMH939360) که میزبان آن‌ها طالبی می‌باشد، داشت و با جدایه‌های دیگر سیستان و بلوچستان (MH939355، MH939359 وMH939356) دارای ۹۹/۷٦ درصد تشابه نوکلئوتیدی دارد و دو جدایه‌ی هیرمند (MH939355) و نیمروز (MH939356) نیز دارای تشابه نوکلئوتیدی ۱۰۰ درصدی می‌باشند. براساس تجزیه کلاستر توالی‌ها به روش Maximum likelihood، کلیه جدایه‌های مورد مطالعه از مناطق مختلف دنیا در ۲ گروه فیلوژنتیکی قرار گرفتند (شکل ٤). گروه اول شامل جدایه‌های از چین، ژاپن، تایلند و جدایه‌ی ایران (کنارک) می‌باشد، در حالی‌که گروه دوم تنها شامل جدایه‌هایی از مناطق جنوب شرق و مرکزی ایران بود. جدایه‌های ایران به دو زیرگروه مرکزی (جدایه‌های که قبلا گزارش شده بودند) و جنوب شرق (جدایه‌های تعیین توالی شده در این تحقیق) تقسیم شدند.



شکل ۱- نتایج آزمون پی سی آر در ژل آگارز ۱ درصد مربوط به بخشی از ناحیه ژن رمزکننده پروتئین همولوگ شوک حرارتی ویروس زردی کلروتیک کدوییان (CCYV) (٤٦۲ bp)، چاهک ۱، ۲، ۵ و ۷ باند حاصل از آغازگرهای (CCYV R/ CCYVF)، چاهک M مربوط به نشانگر اندازه Gene ruler DNA ladder 50 bp (شرکت فرمنتاس، لیتوانی).

جدول ۲- وضعیت آلودگی ویروس CCYV در مزارع استان سیستان و بلوچستان

محل نمونه‌برداری	میزبان	تعداد نمونه‌های آلوده به ویروس CCYV	تعداد نمونه‌های آلوده به ویروس‌های کدوئیان	تعداد نمونه‌های مورد آزمایش
زاهدان	طالبی	-	۳	٦
سراوان	هندوانه و طالبی	-	٦	۷
ایرانشهر	هندوانه	-	٦	۱۲
نیکشهر	کدومسمایی، طالبی و هندوانه	-	۱٤	۲۱
کنارک	طالبی و هندوانه	۱	۹	۲۰
چابهار	کدو حلوایی و هندوانه	-	۱۲	۱۸
سرباز	کدو مسمایی، طالبی و هندوانه	-	٦	۱۵
هامون	خربزه و هندوانه	۲	۱۲	۱۵
زابل	خربزه و هندوانه	۲	۵	۱۵
هیرمند	خربزه و هندوانه	٦	۸	۲۰
زهک	خربزه و هندوانه	۲	۲۵	۳۰
نیمروز	خربزه و هندوانه	۲	۱۰	۱٦

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-28]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.1.1.2]

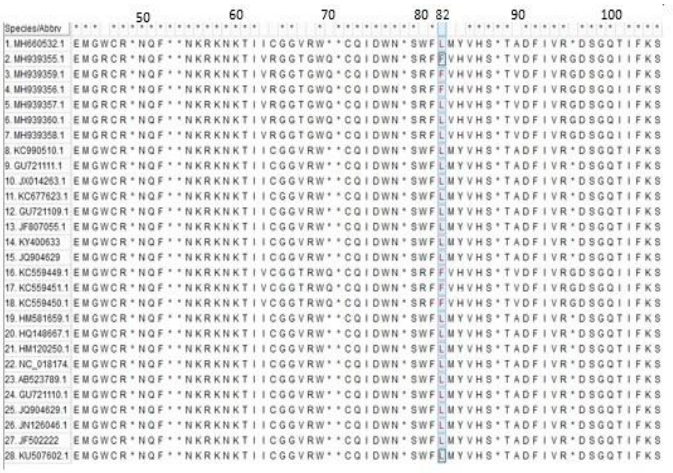
نتایج حاصل از تجزیه فیلوژنتیکی نشان داد که جدایه‌های سیستان و بلوچستان در دو شاخه قرارگرفتند، جدایه‌های (MH939355، MH939359 وMH939356) در یک شاخه مجزا و از روی میزبان‌های مختلف جمع آوری شدند و جدایه‌های (MH939357، MH93958 وMH939360) در گروه L قرار گرفتند و فقط از روی طالبی جداسازی شدند.

نتایج آنالیزهای فشار انتخاب براساس بخشی از ژن پروتئین همولوگ شوک حرارتی نشان داد؛ از ۲۱ (۵۳) جدایه در روش FEL کدون ۸۲ به‌عنوان مثبت انتخاب شد، در حالی‌که در روش MEME یک کدون اضافی (کدون ۳) شناسایی شد که در تنوع نقش دارد. در نهایت، ۲ کدون شناسایی شد که همه در نیمه ابتدایی ′5 ژن Hsp70h قرار داشتند. موقعیت‌های منفی توسط این روش‌ها شناسایی نشد. (جدول ۳). مشخص شد که کدون ۸۲ در جدایه‌های مرکزی و سه جدایه‌ی از هیرمند، زابل و نیمروز اسید امینه فنیل آلانین (F) را کد می‌کنند و در موقعیت ۲٤٤ اسید نوکلئوتید به باز تیامین تغییر یافته در حالیکه این کدون در جدایه‌های دیگر از این استان و آسیای شرقی اسیدآمینه لوسین (L) را کد می‌کند احتمالا این موضوع سبب قرار گرفتن جدایه‌های ایرانی در زیر گروه‌های جدا و تقسیم شدن جدایه‌های شمال سیستان و بلوچستان به دو شاخه مجزا می‌باشد (شکل ۲ و ۳).

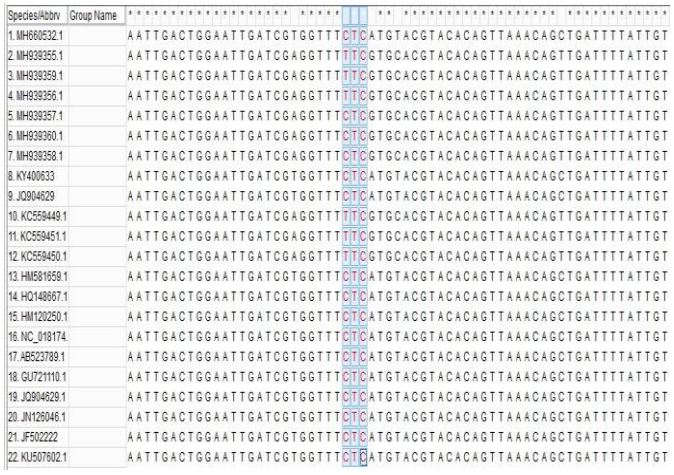
جدول ۳- نتایج آنالیزهای انتخاب کدون با استفاده از روش‌های انتخاب (FEL, SLAC و MEME) برروی ژن شوک حرارتی ویروس CCYV

روش method	منفی (Negative)	خنثی (Neutral)	مثبت (Positive)	موقعیت موتیف اسید آمینه‌ای (Location)
FEL	۰	–	۱	۸۲
MEME	-	-	۲	۸۲ و ۳
SLAC	۰		۰	–

میزان Fixation index (F_{ST}) شاخص جریان ژنی (Gene flow) برابر با ۰/۹٤ و نشان‌دهنده این است که جریان ژنی بین جمعیت ایران به آسیای شرقی کم و تفاوت ژنتیکی زیاد می‌باشد. تاکنون توالی از استان سیستان و بلوچستان از ویروس زردی کلروتیک کدوئیان در بانک ژن ثبت نشده بود توالی‌های مزبور با رس شماره‌های MH939357، MH939355، MH93958، MH939360 ، MH939356، MH939359 و MH660532 در بانک ژن ثبت شده است.

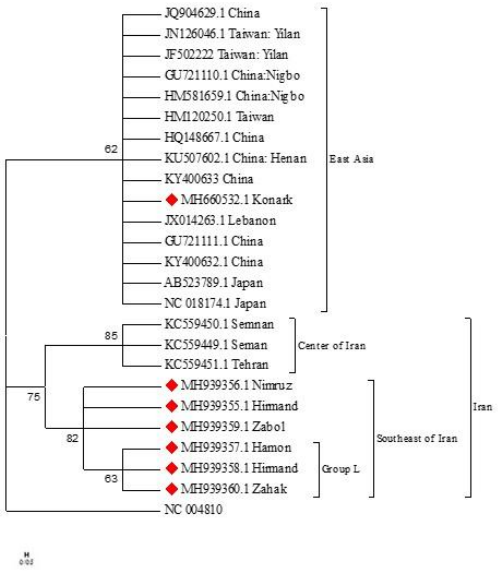


شکل ۲- هم‌ردیفی توالی‌های اسید آمینه بخشی از ژن پروتئین همولوگ شوک حرارتی (HSP70h) جدایه‌های CCYV مورد بررسی در این تحقیق با استفاده از نرم‌افزار Mega 7.0، اسید امینه در موقعیت ۸۲ جدایه‌های مرکزی ایران و سه جدایه‌ی سیستان و بلوچستان به اسید امینه فنیل آلانین تغییر یافته است.



شکل ۳- هم‌ردیفی توالی‌های اسید نوکلئوتید بخشی از ژن همولوگ پروتئین شوک حرارتی (HSP70h) جدایه‌های CCYV مورد بررسی در این تحقیق با استفاده از نرم‌افزار Mega 7.0، اسید نوکلئیک در موقعیت ۲٤٤ جدایه‌های مرکزی ایران و سه جدایه‌ی سیستان و بلوچستان به باز تیامین (T) تغییر یافته است.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-28]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.1.1.2]



شکل ٤- نمودار درختی رسم شده به روش Maximum Likhood بر اساس توالی نوکلئوتیدی قطعه ٤٦٢ جفت‌بازی ژن همولوگ پروتئین شوک حرارتی جدایه ویروس CCYV و جدایه‌های موجود در بانک ژن NCBI. ویروس اختلال کوتولگی زرد کدوئیان (با رس شمار NC_004810) به‌عنوان عضو برون گروه انتخاب شد. جدایه‌های مورد بررسی در این تحقیق با◆ نشان داده شده‌اند.

بحث

تنوع ژنتیکی CCYV به طور دقیق مورد مطالعه قرار نگرفته است، شاید به‌علت تعداد کم توالی‌های کامل و جزئی موجود در بانک ژن، مطابق با نتایج این تحقیق، جدایه‌های ایران تفاوت قابل توجهی را نسبت به جدایه‌های مناطق جغرافیایی مختلف (غیر ایرانی) نشان دادند که با نتایج بررسی Keshavarz et al. (2013) مطابقت داشت. این احتمال وجود دارد که جدایه‌های CCYV هم دارای یک گروه‌بندی ژنتیکی (زیرگروه‌های غربی و شرقی) اما با نام‌گذاری متفاوت، مشابه با ویروس *Cucurbit yellow stunting disorder virus* گونه دیگر جنس کرایتی ویروس باشند (Abrahamian and Abou-Jawdah. 2014).

توالی آمینواسیدی بخشی از ژن HSP70h جدایه‌های سیستان و بلوچستان از ١٤٣ آمینواسید تشکیل شده است و این پروتئین در حرکت سلول به سلول ویروس‌ها از طریق پلاسمودسماتا از طریق فعالیت ATPase نقش دارد و در واقع یک نوع پروتئین حرکتی ویژه محسوب می‌شود. دارای دو دامنه می‌باشد، دامنه ATPase N-terminal و دامنه C-terminal که حاوی گیرنده‌های پپتیدی است (Alzhanova et al. 2001). موتیف آمینواسیدی در موقعیت ٨٦ در ترادف‌های آمینواسیدی جدایه‌های مرکزی و گروه L مشاهده شد و احتمالا در حرکت بین سلولی ویروس نقش دارد و باعث تنوع ژنتیکی بالای این جدایه‌ها شده است. همچنین با توجه به تفاوت نوکلئوتیدی زیاد جدایه‌های ایران با جدایه‌های شرق آسیا این طور به‌نظر می‌رسد که فشار انتخاب مثبت روی جدایه‌های ایرانی زیاد است چرا که باعث تغییرات آمینواسیدی زیادی شده است.

جدایه‌های CCYV بر اساس توزیع جغرافیایی وتخصص میزبانی مورد بررسی فیلوژنی قرار گرفتند. طبیعی است که تنوع جغرافیایی و میزبانی می‌تواند رابطه مستقیم با تغییرات نوکلئوتیدی و آمینواسیدی داشته باشد و فشار انتخاب میزبانی در تنوع ژنتیکی آن‌ها دخالت داشته است (Nourinejhad Zarghani et al. 2017). بنابراین سه جدایه توالی‌یابی شده از روی طالبی در گروه L تفاوت زیادی با جدایه‌های دیگر داشتند. در نتیجه تغییر در موتیف آمینواسیدی فنیل آلانین در جدایه‌های ایران نسبت به جدایه‌های شرق آسیا نشان می‌دهد که فشار انتخاب مثبت روی ژن *HSP70h* زیاد است چرا که باعث تغییرات آمینواسیدی شده‌است.

از آنجا که ارقام مختلفی از کدوئیان در ایران کشت می‌شوند، بنابراین قرار گرفتن جدایه‌های ایران در دو شاخه مجزا (مرکزی و جنوب شرق) می‌تواند دلیل بر سازگاری تخصصی واریانت‌های

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-28]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.1.1.2]

ویروسی با ارقام مختلف باشد. از سوی دیگر وجود فشار انتخاب مثبت درنیمه ابتدایی 5′ ژن پروتئین همولوگ شوک حرارتی با نقش حرکت سیستمیک درگیاه در جدایه‌های ایرانی نشان از تثبیت برخی جهش‌ها در این ناحیه و افزایش کارایی پروتئین شوک حرارتی و سازگاری بیشتر این پروتئین با میزبان در ایران شده است و نشان‌دهنده قدمت طولانی این ویروس بومی در ایران است و به احتمال زیاد جدایه‌هایی از این ویروس از ایران به سایر نقاط جهان توسط داد و ستدهای بین المللی از طریق دریا انتقال یافته و در آنجا با شرایط محیطی سازگار شده باشند چرا که جدایه‌های جنوب شرق آسیا در کلاستر مجزا قرار گرفته‌اند. از طرفی تحقیقات گذشته در استان هرمزگان (Keshavarz et al. 2013) و نیز یافته‌های حاصل از این تحقیق در استان سیستان و بلوچستان حاکی از گسترش و پراکنش سراسری ویروس CCYV در جنوب کشور است.

بنابراین با توجه به کشت فراوان جالیز در جنوب کشور به‌کارگیری ارقام مقاوم از مؤثرترین راه کنترل این بیماری ویروسی می‌باشد و با توجه به اینکه توصیه ارقام مقاوم در هرمنطقه، با آگاهی از نوع جدایه‌های ویروس موجود در آن منطقه امکان پذیر است پیشنهاد می‌شود مطالعات بیشتری در زمینه شناسایی جدایه‌های این ویروس، تعیین مشخصات مرتبط با بیماری‌زایی و تنوع ژنتیکی آن‌ها در جهت درک بهتر از وضعیت جدایه‌های ایرانی CCYV به‌دست آورد.

منابع

Abrahamian PE, Abou-Jawdah Yusuf (2014) Whitefly-transmitted criniviruses of cucurbits: current status and future prospects. Virus Disease 25:26-38.

Al-Saleh MA, Al-Shahwan I, Amer MA, Shakeel MT, Abdalla AO, Orfanidou C, Katis NI (2015) First report of *Cucurbit chlorotic yellows virus* in cucumber in Saudi Arabia. Plant Disease 99:734.

Ahmadi K, Ebadzadeh HR, Abdi Shah H, Kazemian A, Rafiei M. (2017). Agricultural statistics crop year 2016-2017. Ministry of Agriculture jahad, Iran.

Alzhanova DV, Napuli AJ, Creamer R, Dolja VV (2001) Cell-to-cell movement and assembly of a plant closterovirus: roles for the capsid proteins and Hsp70 homolog. EMBO Journal 20:6997-7007.

Bananej K, Menzel W, Kianfar N, Vahdat A, Winter S (2013) First report of Cucurbit chlorotic yellows virus infecting cucumber, melon and squash in Iran. Plant Disease 97:1005.

Gu QS, Liu YH,Wang YH, Huangfu WG, Gu HF, Xu L, Song FM, Brown JK (2011) First report of *Cucurbit chlorotic yellows virus* in cucumber, melon, and watermelon in China. Plant Disease 95:73.

Gyoutoku Y, Okazaki S, Furuta A, Etoh T,Mizobe M, Kuno K, Hayashida S, Okuda M (2009) Chlorotic yellows disease of melon caused by Cucurbit chlorotic yellows virus, a new crinivirus. Japanese Journal of Phytopathology75:109-111.

Hamed K, Menzel W, Dafalla G, Gadelseed AMA, Winter S (2011) First report of Cucurbit chlorotic yellows virus infecting muskmelon and cucumber in Sudan. Plant Disease 95:1321.

Huang LH, Tseng HH, Li JT, Chen TC (2010) First report of *Cucurbit chlorotic yellows virus* infecting cucurbits in Taiwan. Plant Disease 94:1168.

Keshavarz T, Shams-Bakhsh M, Izadpanah K, Malboobi MA (2013) Occurrence and Genome Analysis of Cucurbit chlorotic yellows virus in Iran. . Journal of Phytopathology doi: 10.1111/jph.12212.

Kumar S, Stecher G, Tamura K (2016) MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. Molecular Biology and Evolution 33:1870-1874.

Li J, Liang X, Wang X, Shi Y, Gu Q, Kuo YW, Falk BW, Yan F (2016) Direct evidence for the semipersistent transmission of Cucurbit chlorotic yellows virus by a whitefly vector. Scientific Reports 6:36604.

Okuda M, Okazaki S, Yamasaki S, Okuda S, Sugiyama M (2010) Host range and complete genome sequence of Cucurbit chlorotic yellows virus, a new member of the genus Crinivirus. Phytopathology 100:560-566.

Orfanidou CG, Baltzi A, Dimou NA, Katis NI, Maliogka VI (2017) Cucurbit chlorotic yellows virus: Insights into Its Natural Host Range, Genetic Variability, and Transmission Parameters. Plant Disease 101:2053-2058.

Thompson JD, Gibson T, Higgins DG (2002) Multiple sequence alignment using ClustalW and ClustalX. Current Protocols in Bioinformatics 2:3-22.

Zeng R, Dai FM, Chen WJ, Lu JP (2011) First Report of Cucurbit chlorotic yellows virus Infecting Melon in China. Plant Disease. 95: 354.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-28]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.1.1.2]