

پراکنش پوتی و ویروس آلوده کننده زعفران (*Crocus sativus* L.) در مناطق عمده کشت زعفران در ایران

شیرین پریزاد^۱، اکبر دیزجی^۱، مینا کوهی حبیبی^۱، فرناندو گارسیا آرنال^۲، سیامک کلانتری^۳، فاطمه ایزدپناه^۳

^۱ گروه گیاهپزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

^۲ مرکز بیوتکنولوژی و ژنومیکس گیاهی، دانشگاه پلی تکنیک مادرید، مادرید، اسپانیا.

^۳ گروه باغبانی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران.

Parizad@ut.ac.ir

زعفران (*Crocus sativus* L.) گیاهی از خانواده زنبقیان با خواص دارویی متعدد است. طی بازدید های بعمل آمده از مزارع زعفران استان های تهران، اصفهان، فارس، آذربایجان شرقی و خراسان جنوبی و رضوی در سال های ۱۳۹۰ تا ۱۳۹۴، در مجموع تعداد ۷۹۰ نمونه برگی و ۱۰۰ نمونه بنه گیاهی به صورت تصادفی نمونه برداری شد. نمونه های برگی (جمع آوری شده از مزارع و نیز حاصل از کشت و رشد بنه ها) با آزمون الایزا و با استفاده از آنتی بادی عمومی جنس پوتی ویروس و آنتی بادی گونه اختصاصی ویروس های گزارش شده قبلی از سایر نقاط دنیا از *Crocus spp.* مانند ویروس موزائیک خیار (CMV)، ویروس جغ جنک توتون (TRV)، ویروس پژمردگی بوته ای گوجه فرنگی (TSWV) و ویروس نکروز توتون (TNV) بررسی شد که ۶۴۱ از ۸۹۰ نمونه فقط با آنتی بادی عمومی جنس پوتی ویروس واکنش مثبت نشان دادند. در آزمون های سرولوژیکی بعدی برای تشخیص پوتی ویروس آلوده کننده زعفران، تمام نمونه های آلوده به پوتی ویروس با آنتی بادی گونه اختصاصی چند ویروس گزارش شده قبلی از سایر نقاط دنیا از *Crocus spp.*، از جمله ویروس موزائیک معمولی لوبیا (BCMV)، ویروس موزائیک زرد لوبیا (BYMV)، ویروس موزائیک شلغم (TuMV) و ویروس خراشک توتون (TEV) و چند پوتی ویروس دیگر شامل ویروس موزائیک معمولی نکروز لوبیا (BCMNV)، ویروس موزائیک سویا (SMV) و ویروس موزائیک هندوانه (WMV) مورد بررسی قرار گرفتند. براساس نتایج، تمام نمونه های آلوده به پوتی ویروس با آنتی بادی گونه اختصاصی ویروس موزائیک معمولی لوبیا واکنش مثبت نشان دادند. این نتایج حاکی از آلودگی گسترده گیاه زعفران توسط این ویروس است. پس از استخراج پروتئین کل از بافت برگی بوته آلوده، الکتروفورز پروتئین در ژل پلی اکریل آمید و آزمون وسترن بلات با آنتی بادی BCMV، توده مولکولی پروتئین پوششی (CP) ویروس آلوده کننده زعفران ۳۶/۳۴ کیلودالتون تخمین زده شد. متعاقباً آن را از گیاهان آلوده استخراج و واکنش زنجیره ای پلیمرز معکوس با استفاده از آغازگرهای عمومی مربوط به جنس پوتی ویروس انجام و قطعه ای به طول ۱۶۳۷ جفت باز شامل 3'UTR، CP و بخشی از Nib و همچنین دو قطعه ۷۰۰ جفت بازی (متناظر با بخشی از نواحی CI و HC-Pro) از ژنوم پوتی ویروس آلوده کننده زعفران تکثیر گردید. پس از همسان سازی و تعیین ترادف نوکلئوتیدی قطعات بدست آمده، ناحیه کدکننده پروتئین پوششی پوتی ویروس آلوده کننده زعفران بیشترین یکسانی توالی نوکلئوتیدی با *Ceratobium mosaic virus* (CerMV) و *Telosma mosaic virus* (TeMV) (۷۴ درصد) و ترجمه آمینواسیدی با BCMNV (۷۸/۸ درصد) نشان داد. همردیف سازی چندگانه و تحلیل تبارزایی این ویروس با سایر پوتی ویروس ها بر اساس توالی ناحیه ژنی پروتئین پوششی با استفاده از نرم افزار MEGA6، روش Maximum Likelihood (ML) و مدل general time-reversible (GTR+G+I) انجام شد. در درخت تبارزایی، این ویروس در زیرگروه ویروس موزائیک معمولی لوبیا جنس پوتی ویروس قرار گرفت. براساس نتایج این تحقیق، ویروس آلوده کننده زعفران متعلق به جنس پوتی ویروس بوده و رابطه سرولوژیکی بالایی با BCMV دارد اما بر اساس معیارهای مولکولی تعیین حدود و ثغور گونه در خانواده *Potyviridae* برپایه توالی ناحیه ژنی CP (یکسانی کمتر از ۷۶ و ۸۲ درصدی توالی نوکلئوتیدی و ترجمه آمینواسیدی)، این ویروس به احتمال قوی به عنوان گونه مجزایی از جنس پوتی ویروس می باشد. لذا تعیین جایگاه تاکسونومیک این پوتی ویروس مستلزم مطالعات بیشتر، خصوصاً تعیین توالی کل ژنوم آن می باشد.

واژه های کلیدی: زعفران (*Crocus sativus* L.)، پوتی ویروس، ویروس موزائیک معمولی لوبیا، الایزا، واکنش زنجیره ای پلیمرز معکوس.