ترادف نوکلئوتیدی ژنوم کامل و جایگاه تاکسونومیکی جدایه‌های جو و گندم سویه گندم ویروس کوتولگی گندم در ایران *

THE NUCLEOTIDE SEQUENCE OF COMPLETE GENOME AND TAXONOMIC POSITION OF WHEAT AND BARLEY ISOLATES OF WHEAT STRAIN OF WHEAT DWARF VIRUS IN IRAN

مائده لطفی پور، محمدهادی عمید مطلق، علیرضا افشاریفر**، سید علی اکبر بهجت نیا و کرامت‌اله ایزدپناه[۱]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱/۱۵؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۵/۲۹)

چکیده

ویروس کوتولگی گندم (WDV) از عوامل اصلی ایجادکننده بیماری‌های کوتولگی و زردی غلات است. دو سویه جو (WDV-B) و گندم (WDV-W) از این ویروس از مزارع گندم و جو مناطق مختلف ایران گزارش شده‌اند. مطالعه پراکنش سویه‌های WDV در مزارع غلات ایران نشان داده است که WDV-W از گسترش بیشتری نسبت به WDV-B برخوردار است. بیش از این ترادف نوکلئوتیدی ژنوم کامل یک جدایه از WDV-B از استان خراسان (WDV-Bar[IR:Bar]) تعیین شده است. برای مشخص شدن وضعیت تاکسونومیکی جدایه‌های گندم و جو WDV-W در ایران، ژنوم کامل یک جدایه گندم WDV-W از شهرکرد استان چهارمحال و بختیاری (WDV-Whe[Iran:Sh:Whe]) و یک جدایه جو از همین سویه از منطقه بوانات استان فارس ([WDV-Whe [Iran:Ba:Bar]) به ترتیب شامل ۲۷۵۰ و ۲۷۴۹ نوکلئوتید تعیین ترادف شدند. دندروگرام حاصل از مطالعات تبارزایی تقسیم بندی سویه‌های WDV را به دو گروه WDV-W و WDV-B تأئید نمود به طوری که WDV-Whe[Iran:Sh:Whe] و WDV-Whe[Iran:Ba:Bar] در گروه WDV-W و WDV-Bar[IR:Bar] همراه با سایر جدایه‌های WDV-B در گروه دیگر قرار گرفتند. نتایج حاصل از ترادف نوکلئوتیدی در قسمت‌های مختلف ژنوم نیز نشان داد که دو جدایه WDV-W مورد مطالعه با یکدیگر و با جدایه‌های سویه گندم موجود در بانک ژن بیشترین شباهت را در ناحیه پروتئین همراه با همانندسازی و کمترین شباهت را در ناحیه پروتئین حرکتی و ناحیه بین ژنی بزرگ دارند.

واژه‌های کلیدی: جمینی ویروس، جو، گندم، ماستری ویروس، ویروس کوتولگی گندم

---

*: بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول، ارائه شده به دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

**: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: afshari@shirazu.ac.ir

۱. به ترتیب دانشجویان سابق کارشناسی ارشد، دانشیاران و استاد مرکز تحقیقات ویروس شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

مقدمه

ویروس کوتولگی گندم (Wheat dwarf virus, WDV) از ویروس‌های مهم و خسارت زای غلات، دارای ژنوم یک بخشی از نوع دی ان ای تک لای حلقوی و متعلق به جنس *Mastrevirus* (تیره *Geminiviridae*) است. این ویروس اولین بار از جمهوری چکسلواکی (Vacke *et al*. 1961) گزارش شد. بعد از آن در سایر کشورهای اروپایی شامل آلمان، مجارستان، فرانسه، فنلاند و ترکیه (Kundu *et al*. 2009) و در برخی کشورهای آسیایی و افریقایی مانند چین (Xie *et al*. 2007؛ Wu *et al*. 2008)، تونس (Najar *et al*. 2000)، زامبیا (Kapooria and Ndunguru 2004) و اخیراً ایران (Behjatnia *et al*. 2011; Lotfipour *et al*. 2012) شناسایی شده است.

ژنوم WDV دارای چهار چارچوب خوانش می‌باشد. دو چارچوب V1 و V2 روی رشته ویریونی (virion-sense strand) که به ترتیب پروتئین های پوششی (Coat protein, CP) و حرکتی (movement protein, MP) را رمز می کنند (Briddon *et al*. 1990). دو چارچوب خوانش C1 و C2 روی رشته مکمل (Complementary-sense strand) هستند که با تشکیل یک ترانوشت به هم چسبان (Spliced transcript)، پروتئین همراه با همانندسازی (Replication-associated proteins, Rep) را رمز می‌کنند (Gabriele *et al*. 1999). علاوه بر چهار چارچوب خوانش، یک ناحیه بین ژنی بزرگ (Large intergenic region, LIR) و یک ناحیه بین ژنی کوچک (Small intergenic region, SIR)در ژنوم WDV وجود دارد. LIR بین انتهای ′۵ ژن‌های Rep و MP می باشد که حاوی توالی‌های پروموتوری برای ترانویسی دو طرفه چارچوب‌های ژنی است، به علاوه این ناحیه در شروع همانندسازی دی ان ای ویروس نقش دارد (Boulton 2002; Lazarowitz, 1992; Hanley-Bowdoin *et al*. 1999). ناحیه بین ژنی کوچک حاوی توالی Polyadenylation برای ختم ترانوشت های چارچوب‌های خوانش رشته های ویروسی و مکمل می باشد (Hayes *et al*. 1988).

ویروس کوتولگی گندم عامل بیماری های کوتولگی و زردی در گندم، جو و یولاف است (Lindsten and Vacke 1991). علاوه بر زردی و کوتولگی علائمی از قبیل کاهش رشد همراه با افزایش انشعابات فرعی و کوتاه ماندن انشعابات (حالت چمنی شدن) و نواری شدن برگ ها، موزائیک در برگ ها، بی نظمی در تشکیل انشعابات فرعی، عقیم شدن بذر و کاهش خوشه دهی را در گندم و جو ایجاد می کند و حتی ممکن است باعث زوال و مرگ این گیاهان شود (Lindsten and Vacke 1991; Lotfipour 2012). مطالعات مربوط به دامنه میزبانی ویروس کوتولگی گندم و آنالیز های تعیین توالی ژنوم نشان داده که ویروس کوتولگی گندم دارای دو سویه گندم (WDV-W) و جو (WDV-B) می‌باشد(Köklu *et al*. 2007, Behjatnia *et al*. 2011). این دو سویه از لحاظ دامنه میزبانی در میان خانواده Poaceae هم پوشانی دارند. WDV-W علاوه برگندم، گیاه جو را نیز با راندمان کمتری آلوده می کند. وجود هر دو سویه WDV در گیاه جو آلوده در مزرعه گزارش شده است (Ramsell *et al*. 2009; Behjatnia *et al*. 2011) . آلودگی جو به WDV-W باعث کوتاهی شدید گیاه می شود. این در حالی است که هیچ گونه گزارشی از انتقال WDV-B به گندم و یا گونه های دیگر جنس *Triticum* در دست نمی‌باشد (Ramsell *et al*. 2009).یک ژنوتیپ جدید WDV در یولاف شناسایی شده است که با سویه‌های گندم و جو WDV تفاوت زیادی دارد و به

عنوان یک گونه مجزا در جنس *Mastrevirus* به نام ویروس کوتولگی یولاف *Oat dwarf virus* (ODV) معرفی شده است (Schubert *et al.* 2007).

در ایران WDV در مزارع غلات بسیار شایع است. *بهجت‌نیا و همکاران* (2011) مناطق انتشار WDV را در استان‌های مختلف ایران و اخیراً *لطفی‌پور و همکاران* (2012) پراکنش سویه‌های گندم و جو WDV را در مزارع آلوده مناطق مختلف کشور بررسی نمودند. بر اساس این مطالعات WDV در تمام ۱۵ استان مورد بررسی دارای پراکندگی وسیعی در مزارع گندم و جو بوده و کمتر مزرعه‌ای پیدا شده است که به بیماری زردی و کوتولگی آلوده بوده و حاوی WDV نبوده است. نامبردگان نتیجه‌گیری نمودند که WDV همراه با BYDVs از عوامل اصلی ایجادکننده بیماری‌های زردی و کوتولگی در مزارع غلات ایران می‌باشند. در این بررسی‌ها همچنین با استفاده از آزمون PCR با آغازگرهای اختصاصی در سطح سویه و تعیین ترادف بخشی از ژنوم ویروس نشان داده شد که از ۲۷۰ نمونه با علائم کوتولگی و زردی ۱۵۵ نمونه به WDV آلوده بودند که از بین آنها ۸۵ نمونه (۵۵٪) آلوده به WDV-W و ۷۰ نمونه (۴۵٪) آلوده به WDV-B بودند. از بین این نمونه‌ها تا کنون تنها ژنوم کامل یک جدایه جو WDV مربوط به منطقه جلگه رخ در استان خراسان تکثیر و تعیین ترادف شده و جایگاه تاکسونومیکی آن مشخص شده است (Behjatnia *et al.* 2011). جدایه مزبور به عنوان جدایه جو ویروس کوتولگی گندم از ایران (WDV-Bar[IR:Bar]) نام‌گذاری شد و اطلاعات آن تحت رس شمار FJ6206844 در بانک ژن ثبت گردید. لکن تا کنون اطلاعاتی در مورد خصوصیات مولکولی ژنوم کامل جدایه‌های گندم و جو WDV-W از ایران گزارش نشده است. به همین منظور در این پژوهش ژنوم کامل دو جدایه گندم و جو WDV-W به ترتیب از منطقه شهرکرد استان چهارمحال و بختیاری و منطقه بوانات استان فارس تعیین ترادف و موقعیت تاکسونومیکی آنها در بانک ژن مشخص شد. هم‌چنین با اطلاعات بدست آمده، امکان بررسی تنوع در بخش‌های بیشتری از ژنوم جدایه‌های ایرانی WDV فراهم شد که در این نوشتار به شرح آنها پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

منبع ویروس

در طول سال‌های ۱۳۸۹-۱۳۸۸ از مزارع کشت گندم و جو مناطق مختلف استان‌های فارس و چهارمحال و بختیاری بازدید به عمل آمد و از گیاهان با علائم زردی و کوتولگی نمونه‌برداری صورت گرفت. با استفاده از یک آنتی سرم چند همسانه‌ای WDV که از شرکت DSMZ آلمان تهیه شده بود آلودگی تعدادی از نمونه‌ها به WDV مشخص شد(Converse and Martin 1990). در این مرحله استخراج دی ان ای از نمونه‌های آلوده به WDV با استفاده از روش سیلیکا ماتریکس، ترکیبی از روش *ماکنیز و همکاران* (1997) و روش *بوم و همکاران* (1990)، به عمل آمد و از دی ان ای استخراج شده در آزمون واکنش زنجیره‌ای پلی مراز (PCR) استفاده شد. با استفاده از جفت آغازگر $WDVChina1130^{V}$ و $WDVChina1430^{C}$ (جدول ۱) در آزمون PCR، که یک قطعه ۳۰۱ جفت بازی را فقط از ژنوم سویه گندم WDV تکثیر می‌کند و قادر به تکثیر قطعه‌ای از ژنوم سویه جو WDV نیست (Lotfipour *et al.* 2012)، آلودگی یک بوته گیاه گندم از مزرعه‌ای در شهر کرد استان چهارمحال و بختیاری و یک بوته گیاه جو از مزرعه ای در شهرستان

جدول ۱. آغازگرهای مورد استفاده در واکنش زنجیره ای پلیمراز برای تکثیر قطعات ژنوم WDV

Table 1. Oligonucleotide primers used in PCR for amplification of WDV DNA fragments

Primers آغازگر	Nucleotide position موقعیت	Annealing Temperature (ºC) دمای اتصال	Sequence (5' to 3') ترادف (′۳ – ′۵)
WDVChina1130[V]	1130-1155	58	CTACGGCGTTTGATGTTGATAGTG
WDVChina1430[C]	1405-1430	58	AGGCGAGWCDTTCATCAACTACTCG
WDVChina1244[V]	1244-1275	60	GGCTACGAGCAAAGACAAACCAAATTATAAC
WDVChina1243[C]	1217-1243	60	GAGCCTCTGTAATCGAATGACATGAG
WDVChina2090[C]	2063-2090	60	TCATTGAATCTAGTTCCTCTCGCGAGG
WDVChina2091[V]	2091-2120	60	TCTGTTTCATATCCGCATCACGGTCTTTAC
WDVIR1887[V]	1887-1907	55	CTTACGGAGTAGAGATGTTC
WDVIR328[C]	308-328	55	AACAGAGTGTAAGCAAGCCA

[V]:virion-sense strand primer
[C]: complementary-sense strand primer
[a]: Nucleotide position of WDV-IR and WDV-China primers as in the GenBank database under accession numbers FJ620684 and EF536881, respectively.

بوانات استان فارس به سویه گندم ویروس کوتولگی گندم (WDV-W) قطعی گردید. از دی ان ای این گیاهان جهت تکثیر قطعاتی از ژنوم و تعیین ترادف نوکلئوتیدی ژنوم کامل جدایه‌های گندم و جوWDV-W ایران که به ترتیب نامهای اختصار WDV-Whe[IR:Sh:Whe] و WDV-Whe[IR:Ba:Bar] (طبق اصول ICTV) برای آنها انتخاب شد در آزمون PCR استفاده شد.

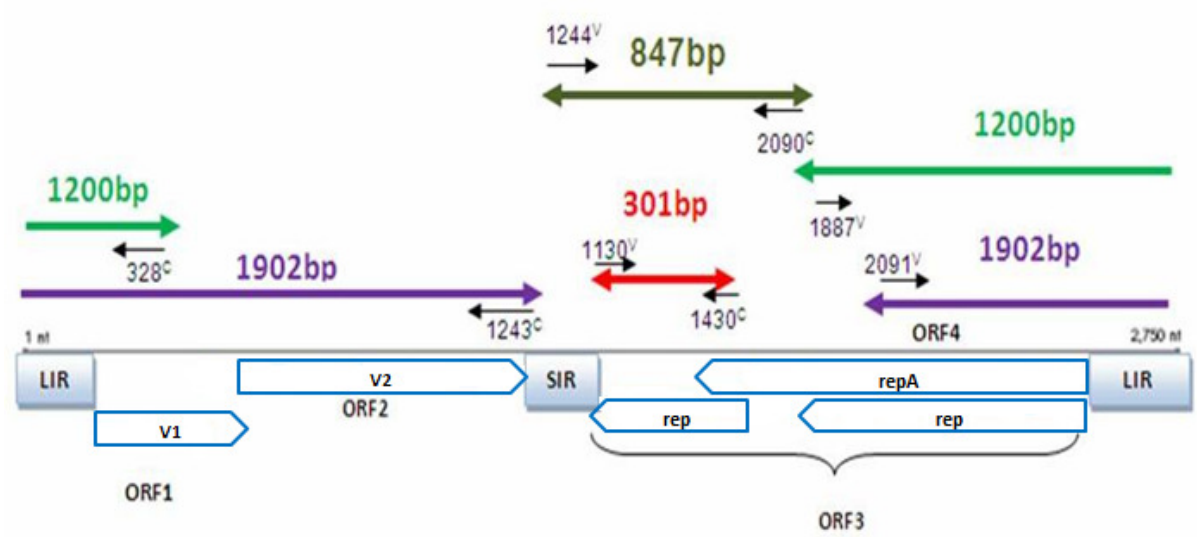
تکثیر و تعیین ترادف ژنوم کامل جدایه‌های ایرانی گندم و جو WDV-W

برای تکثیر قطعات ژنوم جدایه‌های گندم و جو WDV-W در ایران (WDV-Whe[IR:Sh:Whe] و WDV-Whe[IR:Ba:Bar]) از آغازگرهایی که از روی ژنوم کامل یک جدایه گندم WDV-W کشور چین با رس شمار EF536881 طراحی شده بود استفاده گردید. مشخصات آغازگرهای مورد استفاده در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در جدول ۱ و موقعیت آغازگرها و قطعات تکثیر شده ژنوم ویروس (با اندازه تقریبی آنها) در شکل ۱ آورده شده است.

واکنش PCR در حجم‌های ۲۵ میکرولیتری و مطابق روش توضیح داده شده توسط *لطفی‌پور و همکاران* (2012) انجام شد. دمای اتصال آغازگرها در جدول ۱ قید شده است. قطعات تکثیر شده با الکتروفورز در ژل آگاروز ۱/۲ درصد مورد بررسی قرار گرفت. باند مورد نظر از ژل بریده شد و دی ان ای با استفاده از کیت (Qiaquick gel extraction kit, QIAGEN, Germany) از ژل استخراج و از هر قطعه ۴ تکرار جهت تعیین ترادف نوکلئوتیدی به شرکت Tech Dragon کشور هنگ کنگ ارسال گردید.

مقایسه ترادف‌های WDV

ترادف‌های به دست آمده از ژنوم کامل جدایه‌های گندم و جو WDV-W، با ترادف‌های موجود در پایگاه اطلاعاتی NCBI با برنامه BLAST مقایسه شدند و پس از تأیید صحت آنها، هم‌ردیف‌سازی ترادف نوکلئوتیدی و



شکل ۱. سازمان ژنوم ویروس کوتولگی گندم (WDV). موقعیت چارچوب‌های خوانش با پیکان تو خالی( )، آغازگرهای مورد استفاده با پیکان‌های باریک ( ) و قطعه‌های تکثیر شده در آزمون PCR (با اندازه تخمینی آنها) با پیکان‌های ضخیم ( ) نشان داده شده‌اند.

Fig. 1. Genome organization of Wheat dwarf virus, location of primer pairs and amplified DNA fragments. Functional open reading frames (ORFs) on both the virion-sense (V) and the complementary-sense strands are displayed by open thick arrows ( ). Large (LIR) and small (SIR) intergenic region are marked. The position of oligonucleotide primers used in PCR are shown with thin arrows ( )and the amplified DNA fragments (with their estimated sizes) with thick arrows ( )

آمینواسیدی جدایه‌های ایرانی با استفاده از نرم‌افزارهای DNAMAN (Lynnon Biosoft 1998, Version 9.02)، ClustalX (Thompson *et al.* 1997)، MegAlign (DNASTAR) و MEGA5 (Tamura *et al.* 2007) انجام شد، این ترادف‌ها با یکدیگر و با ترادف نوکلئوتیدی جدایه‌های موجود در GenBank مورد مقایسه قرار گرفت، درصد شباهت آنها تعیین و درخت فیلوژنتیکی مربوطه توسط نرم افزار MEGA5 رسم و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. علامت اختصاری و رس‌شمار (Accession number) ویروس‌هایی که در مقایسه های آمینواسیدی و نوکلئوتیدی مورد استفاده واقع شدند در جدول ۲ نشان داده شده است.

نتایج و بحث

تشخیص و ترادف ژنوم کامل جدایه‌های جو و گندم سویه گندم ویروس کوتولگی گندم و ارتباط آنها با یکدیگر

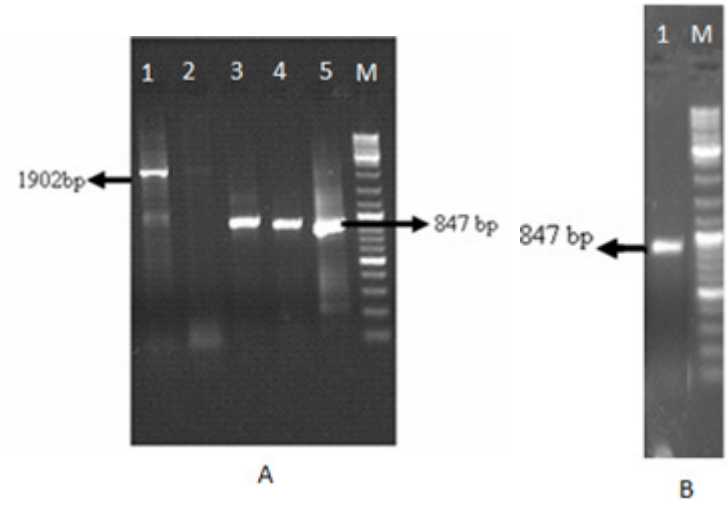
گیاهان گندم و جو جمع آوری شده به ترتیب از یک مزرعه گندم در شهر کرد استان چهارمحال و بختیاری و یک مزرعه جو شهرستان بوانات استان فارس که دارای علائم بیماری زردی و کوتولگی بودند در آزمون PCR برای تعیین وجود WDV مورد آزمایش قرار گرفتند. برای این منظور از چهار جفت آغازگر اختصاصی WDV استفاده شد (جدول ۱). استفاده از جفت آغازگر WDVChina1430^{C} / WDVChina1130^{V} (جدول ۱، شکل ۱) منجر به تکثیر یک قطعه ۳۰۱ جفت بازی از هر

جدول ۲. مشخصات ماستری ویروس‌هایی که در مقایسه با جدایه‌های ایرانی WDV-W و WDV-B مورد استفاده قرار گرفتند.

Table 2. Mastreviruses used in this study for sequence comparisons with Iranian isolates of WDV

Virus ویروس	Abbreviation کوتاهه	Host میزبان	Country کشور	Acc. number رس شمار
Wheat dwarf virus-[Cz19]	CZ19	Barley	Czech Republic	AM296019
Maize streak virus-A[Kenya]	MSV-KE	Maize	Kenya	AF329885
Oat dwarf viru -[SxA25]	SxA25	Oat	Germany	AM296025
Wheat dwarf virus-[SxYL05-5]	SxYL05-5	Wheat	China	EF536881
Wheat dwarf virus-[IRAN]	(WDV-IR[Bar])	Barley	Iran	FJ620684
Wheat dwarf virus-[HU-Pula]	WDV-[HU-P]	Wheat	Ukraine-Hungary	FN806786
Wheat dwarf virus-[Enkoping1]	Enkoping1	Wheat	Sweden	AJ311031
Wheat dwarf virus-[Bg17]	Bg17	Barley	Bulgaria	AM989927
Wheat dwarf virus-[Tayuan]	WDV-[TA]	Wheat	China	DQ868525
Wheat dwarf virus-[DO1]	DO1	Barley	Hungary	FM999832
Wheat dwarf virus-[SXYL05-1]	SXYL05-1	Wheat	China	EF536877
Wheat dwarf virus- [B]	WDV-[B]	*Psammotettix*	Hungary	AM040732
Wheat dwarf virus-[SxA22]	SxA22	*Lolium perenne*	Germany	AM296022
Wheat dwarf virus-[Henan zhengzhou]	[HNZZ05]	Wheat	China	EF536861
Wheat dwarf virus-[Hebei Shijiazhuang]	[HBSJZ06-11]	Wheat	China	EF536870
Wheat dwarf virus-[GSGG05-1]	GSGG05-1	Wheat	China	EF536859
Wheat dwarf virus-[YNKM07-29]	YNKM07-29	Barley	China	EU541489
Wheat dwarf virus-[HE]	HE	Barley	Hungary	FM999833
Wheat dwarf virus-[HU-2Marton]	HU-M	Wheat	Ukraine-Hungary	FN806785
Wheat dwarf virus-[HO7]	HO7	Barley	Hungary	FM210034
Wheat dwarf virus- [Ukraine:Glevakha]	[UK-g]	Wheat	Ukraine	FN806783
Wheat dwarf virus-[Cz8100]	Cz8100	Wheat	Czech Republic	FJ546179
Wheat dwarf virus-[SxA23]	SxA23	Wheat	Germany	AM296023
Wheat dwarf virus-[BB21]	BB21	*Secale cereal*	Germany	AM296021
Wheat dwarf virus-[France]	WDV-[FR]	Wheat	France	X82104
Wheat dwarf virus-[CZ6217]	CZ6217	Wheat	Czech Republic	FJ546189
Wheat dwarf virus-[Sweden]	WDV-[SW]	Wheat	Sweden	X02869
Wheat dwarf virus-[SxA57]	SXA57	Barley	Germany	AM942044
Wheat dwarf virus-[SxTY05-3]	SxTY05-3	Wheat	China	EF536874
Wheat dwarf virus-[SABg12-11]	SABg12-11	Barley	Germany	AM921649
Wheat dwarf virus-[SxTY05-3]	SxTY05-3	Wheat	China	EF536874
Wheat dwarf virus-[SxA43-16]	SxA43-16	Barley	Germany	AM980883

دو نوع گیاه گندم و جو شد (داده‌ها نشان داده نشده است) و بدین ترتیب آلودگی آنها به سویه گندم ویروس کوتولگی گندم (WDV-W) قطعی گردید زیرا این جفت آغازگر اختصاصی این سویه بوده و قادر به تکثیر قطعه‌ای از ژنوم سویه جو WDV نیست (Lotfipour *et al*. 2012). استفاده از سه جفت آغازگر $WDVChina2090^{C}/1244^{V}$، $WDVChina1243^{c}/2091^{v}$ و $WDVChina328^{c}/۱۸۸۷^{v}$ (جدول ۱ و شکل ۱) منجر به تکثیر قطعات دی ان ا به ترتیب با اندازه‌های ۸۴۷ جفت باز(شکل ۲ راهک‌های ۵-۳ الف و راهک ۱ ب)، ۱۹۰۲ جفت باز (شکل ۲ راهک‌های ۱ و ۲ الف) و ۱۱۹۱ جفت باز (داده‌ها نشان داده نشده است) که کل ژنوم WDV-W را پوشش می داد (شکل ۱) از دی ان ای استخراج شده از هر دو گیاه گندم و جو گردید. پس از همسانه‌سازی و ترادف‌یابی این قطعات، ترادف ژنوم کامل ویروس‌ها به‌وسیله اتصال و سرهم کردن (Assembly) ترادف‌های قطعات با کمک برنامه Seqman از گروه دی ان ای استار (DNAStar) تعیین گردید. نتایج نشان داد که اندازه ژنوم جدایه گندم



شکل ۲. نقوش الکتروفورزی قطعات تکثیر شده در PCR با دو جفت آغازگر اختصاصی سویه گندم ویروس کوتولگی گندم. سه نمونه گندم شهر کرد و یک نمونه جو بوانات تکثیر شده با جفت آغازگر $WDVChina2090^{C}/1244^{V}$ (به ترتیب تصویر A: راهک‌های 3 تا 5 و تصویر B راهک 1). دو نمونه گندم شهرکرد تکثیر شده با جفت آغازگر $WDVChina1243^{c}/2091^{v}$ (تصویر A: راهک‌های 1 و 2)، M= نشانگر.

Fig. 2. Electrophoretic patterns of PCR products using two specific WDV primer pairs. Three wheat and one barley samples from Shahrekord and Bavanat amplified with 1244^{V} /$WDVChina2090^{C}$ primer pair (Panel A: lanes 3-5 and panel B: lane 1 respectively). Two wheat samples amplified with $WDVChina2091^{V}$/$p1243^{C}$ primer pair (Panel A: lanes 1 and 2), M= marker.

WDV-W از منطقه شهرکرد استان چهارمحال و بختیاری و جدایه جو WDV-W از منطقه بوانات استان فارس به ترتیب ۲۷۵۰ و ۲۷۴۹ نوکلئوتید است که در مقایسه با ترادف نوکلئوتیدی ژنوم کامل یک جدایه ایرانی از WDV-B (WDV-Bar[IR:Bar]) که اندازه آن ۲۷۳۳ نوکلئوتید گزارش شده (Behjatnia *et al.* 2011) به ترتیب ۱۷ و ۱۶ نوکلئوتید بلندتر هستند. به طور کلی ژنوم جدایه‌های مربوط به WDV-W در مقایسه با WDV-B بلندتر می‌باشد و علت اصلی آن وجود ۱۲ نوکلئوتید در نزدیکی موقعیت نوکلئوتید ۱۴۰۰ ژنوم ویروس واقع در انتهای کربوکسیلی پروتئین همراه با همانندسازی WDV-W می باشد که در WDV-B وجود ندارد. از این تفاوت برای تفکیک دو سویه ذکر شده استفاده شده است (Behjatnia *et al.* 2011, Lotfipour *et al.* 2012).

داده‌های ژنوم کامل جدایه‌های گندم و جو WDV-W ایران، که طبق اصول ICTV به ترتیب نام‌های Wheat dwarf virus-Wheat [IRAN:Shahrekord:Wheat] (به اختصار WDV-Whe[IR:Sh:Whe]) و Wheat dwarf virus-Wheat [IRAN:Bavanat:Barley] (به اختصار WDV-Whe[IR:Ba:Bar]) برای آنها انتخاب شد، تحت رس شمارهای JN791095 و JN791096 در بانک ژن قرار داده شدند.

ساختار و ویژگی‌های ژنوم کامل دو جدایه مورد مطالعه WDV-W مشابه سایر ماستری ویروس‌ها و حاوی دو چارچوب ژنی V1 و V2 در روی رشته ویروسی، دو چارچوب ژنی همپوشان C1 و C2 روی رشته مکمل و دو ناحیه بین ژنی بزرگ و کوچک می‌باشد. اندازه و جایگاه چارچوب‌ها ژنی و نواحی بین ژنی جدایه گندم (شهرکرد)

ویروس کوتولگی گندم در ایران (WDV-Whe[IR:Sh:Whe]) در جدول ۳ نشان داده شده است. اندازه و جایگاه چارچوب‌های ژنی و نواحی بین ژنی جدایه جو (بوانات) ویروس کوتولگی گندم در ایران (WDV-Whe[IR:Ba:Bar]) نیز عیناً مانند WDV-Whe[IR:Sh:Whe] است با این تفاوت که ناحیه بین ژنی بزرگ و در نتیجه اندازه کل ژنوم WDV-Whe[IR:Ba:Bar] یک نوکلئوتید از WDV-Whe[IR:Sh:Whe] کوچک‌تر است. با وجود این، میزان تشابه نوکلئوتیدی این دو جدایه WDV-W در ژنوم کامل ٪۹۶/۴ است. به‌عبارت دیگر از نظر نوع نوکلئوتید در ۱۵۷ نوکلئوتید در ژنوم کامل با هم اختلاف دارند.

موقعیت تاکسونومیکی جدایه‌های ایرانی جو و گندم سویه گندم ویروس کوتولگی گندم

مقایسه ترادف ژنوم کامل این جدایه‌ها با جدایه‌های موجود در بانک ژن نشان داد که WDV-Whe[IR:Sh:Whe] بیشترین میزان تشابه را با جدایه‌های سوئد و فرانسه WDV-W به میزان ۹۸/۷ درصد دارد و با سایر جدایه‌های WDV-W موجود در بانک ژن ۹۷/۵ تا ۹۸/۵ درصد شباهت دارد. در حالی که درصد تشابه باجدایه‌های WDV-B سایر نقاط دنیا ۷۷/۹ تا ۸۵/۶ درصد است که بیشترین میزان آن با WDV-Bar[IR:Bar] (۸۵/۶ درصد) می‌باشد (شکل شماره ۳).

نتایج به دست آمده از آنالیزهای مقایسه‌ای WDV-Whe[IR:Ba:Bar] نیز نشان داد که با وجود این‌که میزبان این جدایه گیاه جو است اما بیشترین شباهت این جدایه، ابتدا با جدایه گندم شهر کرد (WDV-Whe[IR:Sh:Whe]) به میزان ۹۶/۴ درصد و سپس با جدایه چین WDV-W به میزان ۹۶/۲ درصد است. این جدایه با سایر جدایه‌های WDV-W در بانک ژن ۹۲/۹ تا ۹۶/۴ درصد شباهت دارد. مقایسه WDV-Whe[IR:Ba:Bar] با جدایه‌های WDV-B بانک ژن شباهت ۸۰/۴ تا ۸۸/۵ درصد را نشان داد، که بیشترین شباهت آن در بین جدایه‌های WDV-B با WDV-Bar[IR:Bar] به میزان ۸۸/۵ درصد تعیین شد. این اولین گزارش آلودگی گیاه جو توسط WDV-W در ایران است. تا کنون گیاه جو و یا علف‌های هرزی چون *Avena fatua* و *Apera spica venti* به عنوان میزبان‌های هر دو سویه گزارش شده‌اند (Mehner *et al*. 2003). در ایالت Saxony Anhalt کشور آلمان نیز وجود هر دو سویه گندم و جو WDV گزارش شده است (Mehner *et al*. 2003)، اما در سوئد فقط WDV-W یافت شده و خطر کمی را روی Triticale داشته است در حالی که بیشترین خسارت روی Triticale در هلند ناشی از WDV-W گزارش شده است (Jezewska 2001; Ramsell 2008). دندروگرام حاصل از مطالعات تبارزایی (شکل۴) نشان داد که جدایه‌های WDV به دو گروه اصلی که یکی WDV-W و دیگری WDV-B است بدون لحاظ کردن منطقه انتشار تقسیم می‌شوند. گروه WDV-W شامل تمام جدایه‌های گندم و جو استرین گندم WDV از جمله دو جدایه مورد مطالعه در این تحقیق یعنی WDV-Whe[IR:Sh:Whe] و WDV-Whe[IR:Ba:Bar] است و گروه WDV-B تنها شامل جدایه‌های استرین جو WDV می‌شود. WDV-Bar[IR:Bar] در این گروه قرار می‌گیرد. با وجودی که WDV-Whe-[IR: Sh:Whe] بیشترین شباهت را با جدایه‌های سوئد و فرانسه WDV-W و WDV-Whe [IR:Ba:Bar] بیشترین شباهت را با یک جدایه WDV-W

جدول ۳. اندازه و جایگاه بخش‌های مختلف ژنوم جدایه گندم (شهرکرد) سویه گندم ویروس کوتولگی گندم

Table 3. Size and position of genomic regions of WDV-Whe[IR:Sh:Whe]

چارچوب های خوانش ORF (پروتئین protein)[a]	موقعیت نوکلئوتید آغاز و پایان Nucleotides (start-stop)	اندازه	
		نوکلئوتید Nucleotides	آمینواسید Amino acids
V1 (CP)	415-1197	783	260
V2 (MP)	171-443	273	90
C1 (RepA)	2511-1717	795	264
C1/C2 (Rep)	(2511-1882)-(1795-1370)	1056	351
قطعه ژنوم DNA region			
LIR	nt 2512 to nt 170 through nt 2750	409	
SIR	1198-1369	172	
Full-length	1-2750	2750	

[a]CP=coat protein (پروتئین پوششی) MP=movement protein (پروتئین حرکتی)

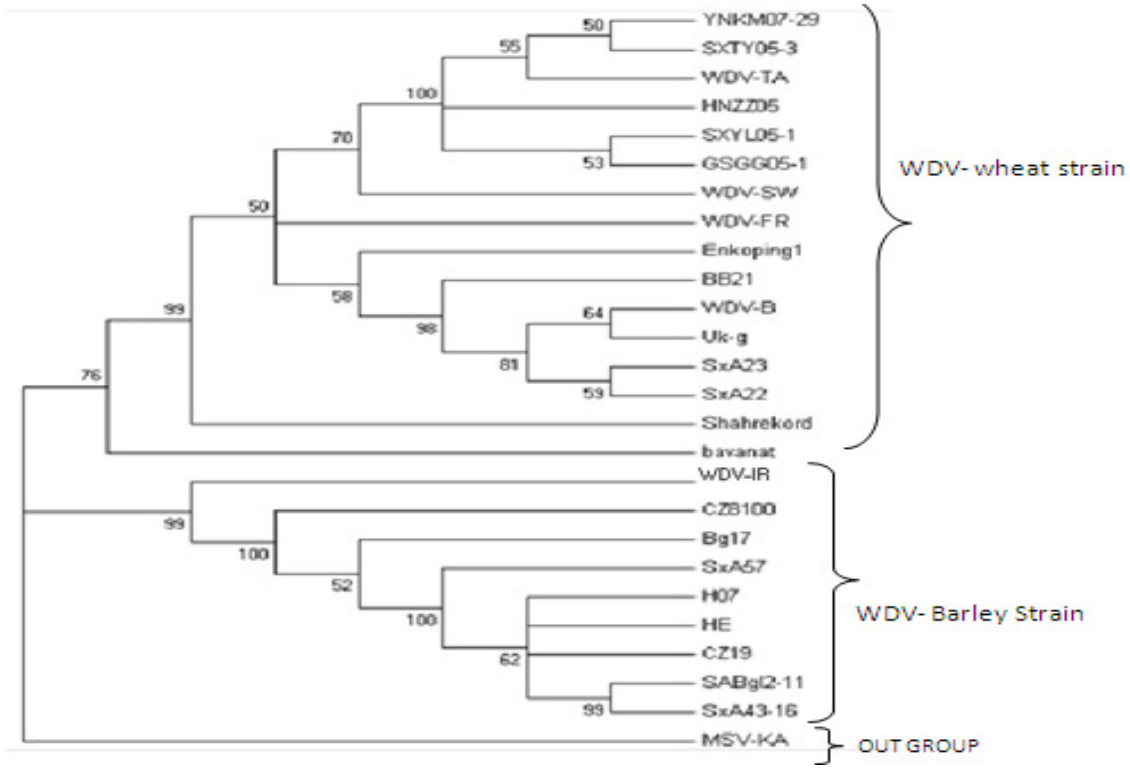
Rep=replication-associated protein; (پروتئین همراه با همانند سازی)

Percent Identity

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22		
1		99.2	99.5	99.4	99.3	98.0	97.9	98.0	97.7	97.4	98.2	98.3	98.6	98.5	95.9	96.2	77.9	77.7	80.3	84.3	85.3	46.7	1	SXYL05-1
2	0.8		99.2	99.1	99.1	97.8	97.8	97.8	97.5	97.2	98.0	98.1	98.5	98.3	95.6	95.9	77.6	77.4	80.1	84.1	85.1	46.7	2	HBSJZ06-11
3	0.5	0.8		99.4	99.5	98.2	98.1	98.2	97.9	97.6	98.4	98.5	98.8	98.5	96.0	96.1	77.9	77.7	80.3	84.3	85.2	46.8	3	GSGG05-1
4	0.7	1.0	0.7		99.4	98.0	98.0	98.0	97.7	97.4	98.2	98.3	98.5	98.5	95.9	96.1	77.8	77.7	80.3	84.3	85.1	46.7	4	HNZZ05
5	0.8	1.0	0.5	0.6		98.0	98.0	98.0	97.8	97.4	98.2	98.3	98.6	98.5	96.0	96.0	77.8	77.6	80.2	84.2	85.2	46.6	5	WDV-TA
6	2.3	2.5	2.1	2.2	2.3		99.6	99.4	99.0	98.6	99.0	98.8	98.5	98.3	95.6	95.3	77.9	77.7	80.3	84.4	85.4	47.0	6	WDV-B
7	2.3	2.5	2.1	2.2	2.3	0.4		99.5	99.0	98.6	99.1	98.7	98.3	98.2	95.5	95.3	78.0	77.8	80.3	84.4	85.5	47.0	7	Uk-g
8	2.2	2.4	2.0	2.2	2.2	0.6	0.5		99.4	98.7	99.3	98.8	98.5	98.2	95.5	95.4	78.1	77.9	80.4	84.6	85.5	46.9	8	SxA23
9	2.5	2.7	2.3	2.5	2.4	1.1	1.1	0.7		98.3	98.9	98.3	98.3	97.9	95.2	95.1	77.7	77.4	80.0	84.1	85.1	46.9	9	SxA22
10	2.8	3.0	2.5	2.8	2.7	1.4	1.5	1.2	1.7		98.4	98.2	97.9	97.5	95.0	94.8	77.8	77.5	80.0	84.2	85.0	46.6	10	BB21
11	2.0	2.2	1.8	2.0	2.0	1.0	1.0	0.8	1.1	1.7		98.8	98.6	98.3	95.7	95.5	77.9	77.7	80.1	84.3	85.2	47.2	11	CZ6217
12	2.0	2.1	1.7	1.9	1.9	1.3	1.4	1.3	1.8	1.8	1.2		98.8	98.7	96.0	95.7	78.2	77.9	80.5	84.6	85.5	46.7	12	Enkoping1
13	1.5	1.6	1.3	1.6	1.5	1.7	1.8	1.5	1.8	2.1	1.5	1.2		98.7	95.9	95.9	78.0	77.8	80.3	84.4	85.3	46.9	13	WDV-FR
14	1.7	1.9	1.7	1.7	1.7	2.0	2.0	2.0	2.3	2.6	1.8	1.4	1.4		95.6	96.4	78.1	77.9	80.4	84.5	85.6	46.9	14	SHAHREKORD
15	1.4	1.7	1.3	1.4	1.3	1.7	1.9	1.8	2.1	2.2	1.6	1.2	1.3	1.7		92.9	78.8	78.7	80.9	82.2	83.2	47.0	15	WDV-SW
16	4.3	4.7	4.4	4.5	4.5	5.4	5.3	5.2	5.6	5.8	5.2	4.9	4.6	4.1	4.9		80.5	80.4	82.6	86.8	88.5	46.7	16	BAVANAT
17	16.4	16.9	16.5	16.5	16.5	16.4	16.3	16.1	16.7	16.5	16.4	16.0	16.1	16.1	18.5	12.9		99.3	89.1	90.5	82.9	42.3	17	HE
18	16.7	17.2	16.8	16.7	16.8	16.7	16.6	16.4	17.0	16.8	16.7	16.4	16.4	16.4	18.8	13.0	0.7		88.9	90.3	82.7	42.2	18	H07
19	18.6	18.9	18.7	18.7	18.8	18.7	18.6	18.4	19.0	18.9	18.9	18.4	18.5	18.5	19.8	15.4	2.8	3.1		93.5	86.9	46.5	19	SxA57
20	18.8	19.1	18.9	18.9	19.0	18.7	18.6	18.4	19.0	18.9	18.9	18.5	18.6	18.5	18.0	15.3	1.2	1.5	2.2		90.9	47.0	20	CZ19
21	17.5	17.7	17.5	17.7	17.6	17.4	17.1	17.1	17.6	17.6	17.6	17.1	17.3	16.9	16.6	13.1	10.3	10.5	10.2	10.5		46.7	21	WDV-IR
22	95.0	95.4	95.0	95.2	95.6	93.9	93.8	94.0	94.2	95.2	93.0	94.8	94.4	94.6	95.4	95.0	92.3	92.7	96.1	93.3	93.7		22	MSV-KA
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22		

شکل ۳. درصد تشابه و واگرایی نوکلئوتیدی بین ژنوم کامل جدایه‌های ایرانی (بوانات و شهر کرد) ویروس کوتولگی گندم و ۳۲ جدایه موجود در بانک ژن (جدول۲) که با روش Clustal W از برنامه MegAlign تعیین شده است. در این مطالعه MSV-KA به‌عنوان یک ویروس خارج از گروه WDV (جدول۲) مورد استفاده قرار گرفت.

Fig. 3. Percent full-length genome sequence identity and diversity between selected isolates of wheat dwarf virus and MSV-KA as out-group (Table 2) used in this study, calculated using Clustal W method and MegAlign program.



شکل ۴. دندروگرام حاصل از تطابق ترادف نوکلئوتیدی ژنوم کامل ۲۵ جدایه WDV و MSV-KA به‌عنوان یک ویروس خارج از گروه WDV (جدول ۲) با استفاده از روش MEGA5. اعداد نمایانگر درصد bootstrap هستند.

Fig. 4. Phylogenetic tree obtained from the alignment of nucleotide sequences of complete genomes of 25 WDV isolates and MSV-KA as out-group (Table 2) using MEGA5 program. The bootstrap score shows the viability of tree.

از چین دارد ولی در دندروگرام حاصل از مطالعات تبارزایی در هیچ‌کدام از زیرگروه‌های تشکلیل شده در گروه WDV-W قرار نگرفته و در دو خط جدا از هم ولی نزدیک به هم در مقایسه با سایر جدایه‌های موجود در بانک ژن و مورد استفاده در این مطالعه قرار می‌گیرند (شکل ۴).

در این مطالعه وضعیت تنوع در چارچوب‌های ژنی مختلف ژنوم جدایه‌های WDV-W و WDV-B نیز بررسی شد. پروتئین حرکتی و پوششی ژنوم ماسترویروس‌ها که از روی چارچوب‌های ژنی رشته ویریونی رمز می‌شوند دارای حفاظت شدگی کمتری نسبت به پروتئین همراه با همانندسازی که از روی چارچوب‌های ژنی رشته مکمل رمز می‌شوند می‌باشند. به عنوان مثال جدایه ایرانی WDV-Whe[IR:Ba:Bar] در ناحیه Rep بیشترین شباهت را به میزان ۹۸/۹ درصد با جدایه‌های WDV-W از کشورهای چین دارد، در حالی‌که بیشترین شباهت این جدایه در ناحیه پروتئین حرکتی به میزان ۹۲/۶ درصد با جدایه WDV-Whe[IR:Sh:Whe] و در ناحیه پروتئین پوششی به میزان ۹۳/۱ درصد با WDV-Bar[IR:Bar] تعیین شد (داده‌ها نشان داده نشده است).

مقایسه ترادف نوکلئوتیدی و آمینواسیدی قطعات مختلف ژنوم جدایه‌های ایرانی ویروس کوتولگی گندم (جدول ۴) نیز نشان داد که پروتئین همراه با همانندسازی

جدول ۴. مقایسه جدایه‌های ایرانی ویروس کوتولگی گندم از لحاظ ترادف نوکلئوتیدی و آمینواسیدی بخش‌های مختلف ژنوم

Table 4. Comparison of Iranian WDV isolates based on nucleotide (nt) and amino acid (aa) sequences of different parts of the genome

چارچوب های خوانش ORF (پروتئین protein)[a]	درصد یکسانی (% identity)					
	WDW-W-W vs WDV-W-B[b]		WDW-W-W vs WDV-B -B[b]		WDW-W-B vs WDV-B-B[b]	
	nt seq.	aa seq.	nt seq.	aa seq.	nt seq.	aa seq.
V1 (CP)	89.7	92.4	84.5	87	93.6	93.1
V2 (MP)	95.8	96.2	89.6	86.7	93.1	89.5
C1 (RepA)	96.1	98.2	90.3	92.9	93.5	94.7
C1/C2 (Rep)	97.3	98.9	90.2	93.5	92.2	94.6
قطعه ژنوم DNA region						
LIR	93.5	-	72.4	-	75.7	-
SIR	99.4	-	81.2	-	81.8	-
Full-length	96.4	-	85.6	-	88.5	-

[a]CP=coat protein (پروتئین پوششی) MP=movement protein (پروتئین حرکتی)

Rep=replication-associated protein ; (پروتئین همراه با همانند سازی)

[b] WDW-W-W=WDV-Whe[IR:Sh:Whe]; WDV-W-B=WDV-Whe[IR:Ba:Bar]; WDV-B-B=WDV-Bar[IR:Bar]

ناحیه بسیار حفاظت شده در ژنوم این ویروس‌هاست. میزان شباهت این پروتئین در سطح آمینواسیدی بین WDV-Whe[IR:Sh:Whe] و WDV-Whe[IR:Ba:Bar] ۹۸/۹ درصد است (جدول ۴). بیشترین میزان شباهت بین نواحی مختلف ژنوم WDV-W و WDV-B نیز در این ناحیه است. شباهت WDV-Whe[IR:Sh:Whe] و WDV-Whe[IR:Ba:Bar] با WDV-Bar[IR:Bar] در ناحیه پروتئین همراه با همانندسازی به ترتیب ۹۳/۵ و ۹۴/۶ درصد تعیین گردید در حالی که در ناحیه پروتئین حرکتی به ترتیب ۸۶/۷ و ۸۹/۵ درصد تعیین شد (جدول ۴).

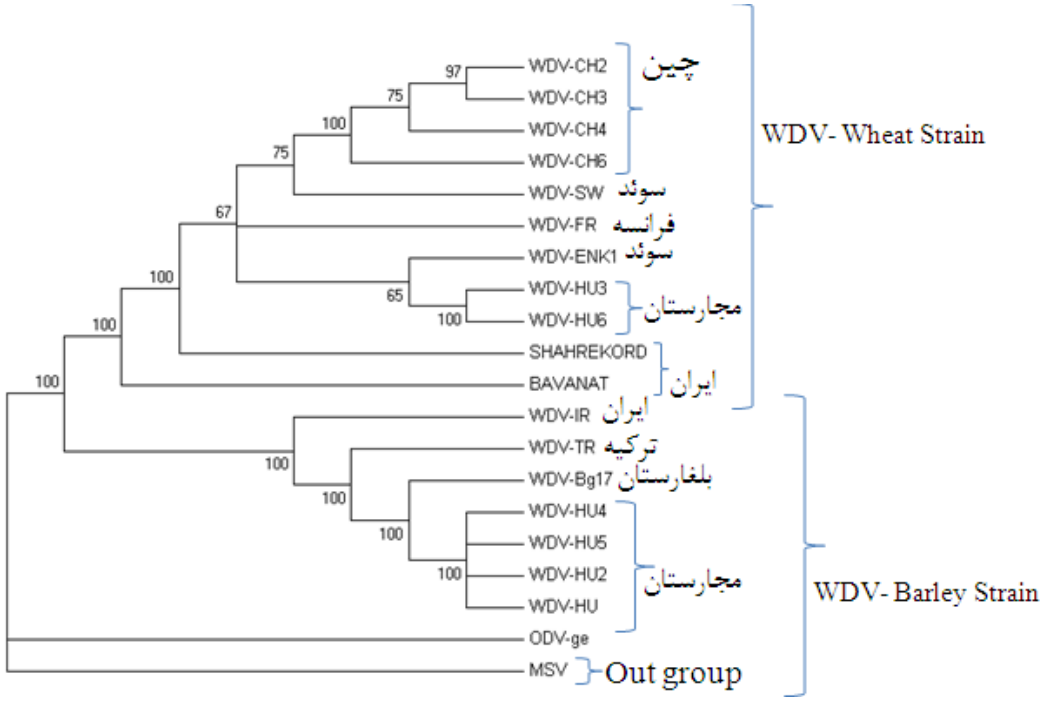
ناحیه پروتئین پوششی و ناحیه بین ژنی بزرگ در ژنوم ماسترویروس‌ها نسبت به نواحی دیگر ژنوم از تنوع بیشتری برخوردار است. این نواحی در بین WDV-Whe[IR:Sh:Whe] و WDV-Whe[IR:Ba:Bar] کمترین میزان تشابه (۸۹/۷ برای پروتئین پوششی و ۹۳/۵ درصد برای ناحیه بین ژنی بزرگ) را نسبت به بقیه بخش‌های ژنوم نشان داد (جدول ۴).

جداول درصد تشابه و آنالیزهای فیلوژنتیک بر اساس اندازه ژنوم کامل (شکل‌های ۳ و۴)، پروتئین پوششی، پروتئین حرکتی و پروتئین همراه با همانندسازی (داده‌ها نشان داده نشده است) نشان داد که WDV-Whe

[IR:Sh:Whe] در تمام موارد بیشترین شباهت را با جدایه‌های WDV-W دارد و در دندروگرامهای حاصل از مطالعات تبارزایی بر اساس ژنوم کامل (شکل‌های ۳ و۴)، پروتئین پوششی، پروتئین حرکتی و پروتئین همراه با همانندسازی در گروه WDV-W قرار می‌گیرد. اما جدایه جو بوانات (WDV-Whe[IR:Ba:Bar]) که بر اساس اندازه کل ژنوم (شکل‌های ۳ و۴)، پروتئین حرکتی و پروتئین همراه با همانندسازی (داده‌ها نشان داده نشده است) در گروه WDV-W قرار می گرفت، بر اساس ژن رمز کننده پروتئین پوششی در گروه WDV-B قرار گرفت (داده‌ها نشان داده نشده است) و در ناحیه پروتئین پوششی بیشترین شباهت را به میزان ۹۳/۱٪ با WDV-Bar[IR:Bar] نشان داد که از میزان شباهت آن (۹۲/۴٪) با WDV-Whe [IR:Sh:Whe] در این ناحیه کمتر بود (جدول ۴) . بنابراین دندروگرام حاصل از مطالعات تبارزایی بر اساس مقایسه ترادف آمینواسیدی پروتئین پوششی جدایه‌های مختلف WDV گروه‌بندی مختلفی را با گروه‌بندی‌هایی که بر اساس ترادف کامل ژنوم و پروتئین‌های حرکتی و همراه با همانندسازی بود نشان داد بدین ترتیب که تنها جدایه‌های گندم WDV-W در یک گروه قرار گرفته و جدایه جو WDV-W بوانات به همراه تمام جدایه‌های جو WDV-B در گروه بعدی واقع شدند. دلیل این گروه‌بندی مختلف در مورد پروتئین پوششی می‌تواند بدلیل سازش جدایه‌ها با گیاه میزبان و ضرورت برهمکنش نزدیک ژن های میزبان با ژن پروتئین پوششی ویروس باشد.

میزان شباهت در سطح نوکلئوتیدی ژنوم کامل دو جدایه WDV-Whe[IR:Sh:Whe] و WDV-Whe[IR:Ba:Bar] ۹۶/۴ درصد است (جدول ۴). بررسی‌های انجام شده در بین جدایه‌های WDV-W از کشورهای دیگر مانند مجارستان و چک نیز نشان داد که این جدایه‌ها بیش از ۹۸ درصد به هم شبیه هستند در حالی که جدایه‌های WDV-B با یکدیگر ۹۱/۹ درصد شباهت دارند (Tobias *et al*. 2011; Kundu *et al*. 2009). در مورد جدایه WDV-B ایران، WDV-Bar[IR:Bar] در مقایسه با سایر جدایه‌های WDV-B در بانک ژن بیشترین شباهت را به میزان ۹۱/۷ درصد با جدایه جو از کشور آلمان داشته است. در دنیا متوسط میزان اختلاف در ترادف نوکلئوتیدی ژنوم کامل در بین جدایه‌های WDV-W حدود ۳ درصد و در بین جدایه‌های WDV-B حدود ۶ درصد گزارش شده است (Ramsell *et al*. 2005). بنابراین WDV-W در مقایسه با WDV-B از تنوع کمتری برخوردار است.

با توجه به درصد بالای میزان تشابه در ترادف ژنوم WDV-Whe [IR:Sh:Whe] و WDV-Whe[IR:Ba:Bar] به نظر می رسد که ویژگی گیاه میزبان اثر چندانی بر روی تنوع WDV-W به‌جز ناحیه پروتئین پوششی ندارد. در آلمان نیز تنوع برای جدایه‌هایی از WDV-W که از بدن زنجرک *Psammotettix* و علف‌های هرزی چون *Avena fatua* و *Apera spica-venti* انجام شده بود نشان داد که تنوع ژنتیکی کم، مشابه با آنچه در جدایه‌های گندم WDV-W دیده شد وجود دارد (Ramsell *et al.* 2008). اما مهم‌ترین دلیل گسترش WDV و تهدید در مزرعه فعالیت حشره ناقل است و علف های هرز از مهم‌ترین میزبان‌های ناقل هستند به طوری که علف هرز *Apera spica venti* در جمهوری چک نقش مهمی را در اپیدمیولوژی WDV ایفا کرده است (Vacke and Cibulka 1999). بنابراین بایستی در پژوهش های آینده در ایران نیز نوع علف های هرز و راندمان انتقال WDV در آنها تعیین گردد.



شکل ۵ . بررسی موقعیت جغرافیایی در گروه‌بندی جدایه‌های سویه گندم و سویه جو ویروس کوتولگی گندم. رابطه فیلوژنتیک حاصل بر اساس مقایسه ترادف ژنوم کامل جدایه‌ها و با استفاده از برنامه MEGA5 ترسیم شده است. مقدار bootstrap ۱۰۰ برای محاسبه روابط فیلوژنتیکی به کار رفته است .

Fig. 5. Geographical grouping of the wheat and barley strains of wheat dwarf virus. The phylogenetic tree was constructed based on the alignment of nucleotide sequences of complete genomes of the isolates using MEGA5 program. The numbers next to tree branches represent the percentage of bootstrap values out of 100 replications supporting a definite phylogenetic group.

دندروگرام حاصل از مطالعات تبارزایی بر اساس ترادف نوکلئوتیدی ژنوم کامل (شکل ۴) نیز نشان داد که تفکیک WDV-W و WDV-B از یکدیگر تنها بر اساس اختلافات موجود در ژنوم آنهاست و در مورد جدایه‌های WDV-W هیچ گروه‌بندی از لحاظ میزبان به جز در ناحیه پروتئین پوششی و موقعیت جغرافیایی مشخص نشده است به طوری که WDV-Whe-[IR: Sh:Whe] و WDV-Whe [IR:Ba:Bar] به ترتیب بیشترین شباهت را با جدایه‌های سوئد و چین دارد و در دندروگرام حاصل از مطالعات تبارزایی در دو شاخه جدا از هم قرار می‌گیرند. این حالت برای دو جدایه از کشور اوکراین نیز مشاهده شده است به طوری‌که دو جدایه WDV این کشور بیشترین شباهت را با جدایه‌هایی از کشورهای مجارستان و سوئد داشتند تا با یکدیگر (Tobias *et al.* 2011). این موضوع ربطی به نوع میزبان ندارد به طوری که جدایه SxA22 آلمان از علف هرز *Lolium*، جدایه BB21 آلمان از گیاه چاودار (*Secale cereale*) و جدایه WDV-B مجارستان از بدن زنجرک ناقل جدا شده است اما از نظر تاکسونومیکی مطابق آنچه که در دندروگرام شکل ۴ مشاهده می شود چندان تفاوتی با جدایه‌های گندم WDV-W ندارند

(Ramsell *et al*. 2008; Ramsell *et al*. 2009). این در حالی است که برای جدایه‌های WDV-B گروه‌بندی بر اساس منطقه جغرافیایی وجود دارد. همان‌طور که در دندروگرام شکل ۵ مشاهده می‌شود WDV-Bar [IR:Bar] و جدایه‌های جو WDV-B از ترکیه، بلغارستان و مجارستان در گروه‌های مجزا قرار گرفتند و چند جدایه مربوط به مجارستان در یک گروه قرار گرفتند. بنابراین در دندروگرام حاصل دو گروه اصلی که یکی WDV-W و دیگری WDV-B است بدون لحاظ کردن منطقه انتشار تشکیل می‌شود. این احتمال وجود دارد که عوامل دیگری مانند رفتار حشره ناقل، رقم‌های گیاهی کشت شده در یک منطقه، تکنیک‌های کشاورزی و منبع اولیه ویروس در هر کشور برای ارزیابی گسترش و واگرایی تکامل WDV در نظر گرفته شوند (Tobias *et al*. 2011).

در مورد نام‌گذاری و طبقه‌بندی ماستری ویروس‌های ایجاد کننده بیماری‌های کوتولگی گندم، جو و برخی غلات مانند یولاف و آستانه تفکیک گونه‌ها هنوز اختلاف نظر وجود دارد. بر اساس نظر کمیته بین المللی نام‌گذاری ویروس‌ها (ICTV)، کمترین میزان شباهت ترادف نوکلئوتیدی ماستری ویروس‌ها برای قرار گرفتن در یک گونه مجزا ۷۵ ٪ بیان شده است که در مقایسه با بگوموویروس‌ها که ۸۹ ٪ در نظر گرفته شده کمتر می‌باشد (Wu *et al*. 2008). در مطالعاتی که در سال ۲۰۰۷ در آلمان روی جدایه‌های ویروس کوتولگی در غلات انجام شد بر اساس دامنه میزبانی و میزان شباهت ترادف نوکلئوتیدی سه گونه مجزای WDV، BDV و ODV را پیشنهاد کردند اگرچه میزان شباهت ترادف نوکلئوتیدی بین جدایه‌های گندم و جو ۸۴-۸۳ درصد گزارش شده است که بیش از آستانه تفکیک گونه ها توسط ICTV می باشد، اما میزان شباهت ODV با WDV و BDV را ۷۰-۶۹ درصد بیان نمودند و بدین ترتیب ODV به عنوان یک گونه مجزا اولین بار از آلمان گزارش شد و با معیارهای ICTV نیز هماهنگی دارد (Schubert *et al*. 2007). در حالی که در ترکیه جدایه‌های گندم و جو ویروس کوتولگی گندم را با وجود سازگار بودن هر جدایه با میزبان اختصاصی خود، آنها را به عنوان سویه‌های WDV نام‌گذاری نمودند (Kundu *et al*. 2009).

منابع

جهت ملاحظه به صفحات (133-131) متن انگلیسی مراجعه شود.