



گزارش علمی کوتاه

اولین گزارش از وقوع ویروس موزاییک خفیف فلفل در آلودگی مخلوط با ویروس روگوز قهوه‌ای گوجه‌فرنگی روی فلفل در استان اصفهان

مهرداد صالح‌زاده^{۱*}، علیرضا افشاریفر^۱، سعیده دهقانپور فراشاه^۲ و مسعود رضائی^۳

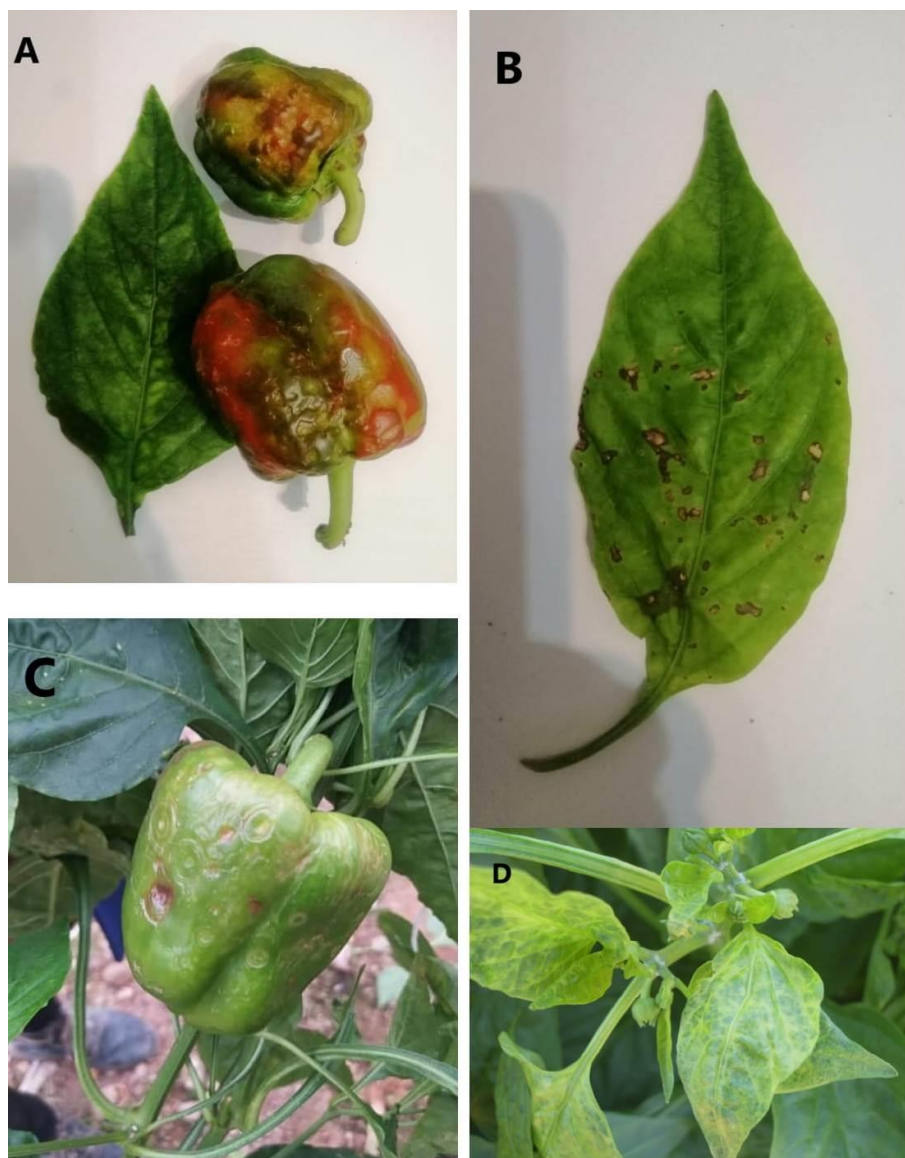
(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱/۲۱)

ویروس موزاییک خفیف فلفل (*Pepper mild mottle virus, PMMoV*)، یک بیمارگر مهم فلفل و بعضی گونه‌های تیره *Solanaceae* است که خسارات عمده‌ای را به این محصولات در سرتاسر نواحی معتدله تا گرمسیری وارد نموده است (Peng et al. 2015). عامل بیماری، ویروس موزاییک خفیف فلفل از جنس *Tobamovirus* و خانواده *Virgaviridae* است (Colson et al. 2010). آلودگی مخلوط این ویروس با توپاموویروس‌های دیگر از جمله ویروس چروکیدگی قهوه‌ای گوجه‌فرنگی (*Tomato brown rugose fruit virus, ToBRFV*) ممکن است منجر به افزایش علائم بیماری و شدت بیماری روی گوجه‌فرنگی شود (Lu et al. 2012). این ویروس اغلب علائم خفیفی را در برگ‌های فلفل آلوده ایجاد می‌کند. این علائم معمولاً به صورت موزاییک و نکروز خفیف ایجاد می‌شود. اما در برخی از واریته‌ها علائم در برگ ممکن است وجود نداشته باشد. به‌منظور بررسی سبب‌شناسی بیماری موزاییک فلفل، گلخانه‌هایی در مناطق مختلف استان اصفهان در تابستان و پائیز سال ۱۴۰۰ شمسی بازدید شد. از بوته‌های فلفل دارای علائم موزاییک و بدشکلی میوه، موزاییک و نکروز برگ‌ها و همچنین از تعدادی بوته‌های با علائم شدید بیماری شامل نکروز میوه، نمونه‌برداری انجام گرفت. آر آن ای کل از بافت برگ‌ها و میوه‌های جمع‌آوری شده با ترکیب ترایزول استخراج و در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراس رونویسی معکوس (RT-PCR) بکار رفت. تلاش برای ردیابی PMMoV از ۲۸ نمونه‌ی آلوده با استفاده از یک جفت آغازگر منطبق‌بر ژن پروتئین پوششی ویروس (PMMoVCP/a و PMMoVCP/s) (Peng et al. 2015) منجر به تکثیر قطعه‌ای ۵۰۰ جفت‌بازی متعلق به بخشی از ژنوم پروتئین پوششی ویروس در ۲۳ مورد از نمونه‌های مشکوک و آلوده شد. در ۱۴ نمونه‌ای که علائم شدید بیماری را نشان می‌دادند، برای ردیابی آلودگی مخلوط این ویروس‌ها با PMMoV از آغازگرهای دژنره‌ی پوتی‌ویروس‌ها Nib3R و Nib1 (Riechmann et al. 2015)، آغازگرهای دژنره‌ی جمینی‌ویروس‌ها B^C primer و primer181^V (Anfoka et al., 2005) و آغازگرهای اختصاصی ویروس چروکیدگی قهوه‌ای میوه‌ی گوجه‌فرنگی TobamodR و TobamodF (Yan et al. 2021) استفاده شد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد در نمونه‌هایی که فنوتیپ شدید بیماری را نشان می‌دادند، قطعه‌ای ۸۱۰ جفت‌بازی مربوط به ناحیه‌ی پلی‌مراس ToBRFV در ۱۱ نمونه و قطعه‌ای ۵۰۰ جفت‌بازی مربوط به

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Mehrdadsalehzadeh@gmail.com

۱. مرکز تحقیقات ویروس‌شناسی گیاهی، دانشگاه شیراز.

۲. استادبار گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران.



شکل ۱. A, B: به ترتیب علائم برگ و میوه‌ی فلفل دلمه‌ای آلوده به ToBRFV + PMMoV. C, D: به ترتیب علائم PMMoV روی میوه‌های فلفل دلمه‌ای

Figure 1. A, B, respectively, of the symptoms of ToBRFV + PMMoV-infected bell pepper leaves and fruits. C, D, respectively, of PMMoV symptoms on bell pepper fruits.

ناحیه‌ی پروتئین پوششی PMMoV تکثیر شد که پس از توالی‌یابی با مقایسه‌ی این توالی (۸۱۰ جفت‌بازی) با توالی‌های موجود در NCBI، آلودگی ۸ مورد از این نمونه‌ها به ویروس چروکیدگی قهوه‌ای گوجه‌فرنگی محرز شد. هم‌ردیف‌سازی چندگانه توالی‌های حاصل از تکثیر PCR نشان داد که توالی نوکلئوتیدی جدایه‌ی ایرانی PMMoV تشابه کاملی (۱۰۰ درصدی) با جدایه‌های لهستانی (با ر‌س‌شمارهای MW314136.1 و MT118666.1) که ویروس نخستین مرتبه از آنجا گزارش شده است را داشت. جدایه‌های ایرانی ToBRFV نیز مشابهت بسیار نزدیکی (۹۸.۷ درصد) با جدایه‌های هلندی (با ر‌س‌شمارهای MW314136.1 و MW314129.1) داشت. نتایج حاصل از این پژوهش‌ها وقوع آلودگی مخلوط ToBRFV

و PMMoV در نمونه‌هایی با فنوتیپ شدید بیماری را در گلخانه‌های استان اصفهان نشان داد. با توجه به اهمیت اقتصادی فلفل دلمه‌ای در ایران، وجود دو توباموویروس بر روی فلفل با علائم شدید، احتمالاً منجر به کاهش قابل توجه عملکرد محصول می‌شود، لازم است در آینده در تدوین برنامه‌های مدیریت بیماری‌های ویروسی در استان مورد توجه قرار گیرد. بررسی بیشتر جهت تعیین میزان پراکنش این ویروس در سایر نقاط کشور، شناسایی میزبان‌های دیگر این ویروس، اثبات اثر هم‌افزایی این دو ویروس در دست انجام می‌باشد. این اولین گزارش از وجود توباموویروس موزاییک خفیف فلفل در ایران و آلودگی هم‌زمان آن با ToBRFV است.

واژگان کلیدی: فلفل، توباموویروس، ویروس موزاییک خفیف فلفل، ویروس چروکیدگی قهوه‌ای گوجه‌فرنگی، آلودگی مخلوط



Short Scientific Report

The first report of *mild pepper mild mottle virus* in mixed infection with *Tomato brown rugose fruit virus* from pepper in Isfahan province**M. Salehzadeh^{1*}, A. Afsharifar¹, S. Dehghanpour Farashah², and M. Rezaei³**

(Received: 26.2.2022; Accepted: 10.4.2022)

Pepper mild mottle virus (PMMoV) is a serious disease in pepper and some other plant species in the Solanaceae family, with significant damage to these crops throughout the temperate to tropical regions (Colson et al. 2010). The causative agent of the pepper mild mottle disease single-stranded RNA virus belonging to the *Tobamovirus* genus in the family *Virgaviridae*, that induce (Peng et al. 2015). Mixed infection of plant viruses is a common feature in nature that may lead to more severe symptoms than their single infection. During a survey conducted in the fall and summer of 2021, capsicum plant samples showing symptoms of mild mosaic symptoms on leaves and fruit blistering and necrosis were collected from several greenhouses in Isfahan. PMMoV with another tobamovirus, *Tomato brown rugose fruit virus* (ToBRFV), may cause more severe symptoms on pepper or tomato plants (Lu et al. 2012). Total RNA was extracted from 28 collected leaves and fruits tissues by using a TRIzol reagent (Sinaclone) and subjected to reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) assay using a PMMoV specific primer pair PMMoVCP / a and PMMoVCP / s (Peng et al. 2015) a 500 bp DNA fragment was amplified from 23 affected pepper plants. Furthermore, To assess the presence of other viruses in mixed-infection with PMMoV, in 14 plant samples showing severe symptoms, the extracted total RNA was used in an RT-PCR using four primer pairs including a degenerate primer pair of potyviruses Nib1 / Nib3R (Riechmann et al. 2015); a degenerate primer pair of begomoviruses primer^{BC} / primer^{181V} (Anfoka et al. 2005) and ToBRFV specific primer pair TobamodF/TobamodR (Tamura et al. 2011). In samples that showed the severe phenotype of the disease amplicons of 500-bp PMMoV *cp* and 810-bp ToBRFV *pol* sequences were obtained from 11 samples, and their nucleotide sequences were determined. By comparing this sequence (810 bp) with other sequences in the NCBI Mixed infection of PMMoV and ToBRFV was shown. BLAST analysis showed that the PMMoV CP sequence of the pepper isolates shared 100% identity with that of Poland pepper isolates (MW314136.1, MT118666.1), the country in which PMMoV was reported for the first time, whereas the ToBRFV *pol* sequence shared 98.7 % identity with that of a Netherlands isolate (MW314129.1, MW314136.1). The results of this study showed the mixed infection of capsicum by two tobamoviruses (PMMoV and ToBRFV) in samples with severe symptoms. Regarding the economic importance of capsicum in Iran, the occurrence of two tobamoviruses on capsicum plants showing severe symptoms will probably lead to a high yield reduction, therefore it is necessary to be considered in future disease management in that province. Further studies to determine the extent of the virus distribution in other parts of the country, identification of other hosts of the viruses and their genetic variation are underway. This is the first report of PMMoV and its coinfection with ToBRFV.

Keywords: Pepper, *Pepper mottle mosaic virus*, *Tomato brown rugose fruit virus*, Mixed infection.

* Corresponding author's email: Mehrdadsalehzadeh@gmail.com

1 & 3. Plant Virology Research Center, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran.

2. Assistant professor, Department of Agriculture, Payame Noor University, Tehran, Iran.

منابع

- Anfoka G. H. Abhary M. & Nakhla M. K. 2005. Molecular identification of species of the Tomato yellow leaf curl virus complex in Jordan. *Journal of Plant Pathology*, 65-70.
- Colson P. Richet H. Desnues C. Balique F. Moal V. Grob J. J. & Raoult D. 2010. *Pepper mild mottle virus*, a plant virus associated with specific immune responses, fever, abdominal pains, and pruritus in humans. *PLoS one*. 5(4) e10041.
- Lu J. Du Z. X. Kong J. Chen L. N. Qiu Y. H. Li G. F. & Zhu S. F. 2012. Transcriptome analysis of *Nicotiana tabacum* infected by *Cucumber mosaic virus* during systemic symptom development.
- Peng J. Shi B. Zheng H. Lu Y. Lin L. Jiang T. & Yan F. 2015. Detection of *pepper mild mottle virus* in pepper sauce in China. *Archives of virology*. 160(8), 2079-2082.
- Riechmann J.L. Cervera M. T. and Garcia A. 1995. Processing of the plum pox virus polyprotein at the P₃-6k1 junction is not required for virus viability. *Journal of General virology*. 76:951-956.
- Yan Z. Y. Zhao, M.S. Liu. L. Z. Yang, G. L. Chao, G. E. N. G. Yanping, T. I. A. N. & LI, X. D. 2021. Biological and molecular characterization of *tomato brown rugose fruit virus* and development of quadruplex RT-PCR detection. *Journal of Integrative Agriculture*. 20(7), 1871-1879.