

مقایسه مولکولی ناحیه ۵' ژنوم جدایه گلستان ویروس موزاییک کوتولگی ذرت (MDMV) با دیگر پوتی ویروس های غلات

فروه سادات مصطفوی نیشابوری^۱ و سعید نصراله نژاد^{۲*}

۱، ۲، دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۱/۱/۲۶ - تاریخ تصویب: ۹۱/۲/۲۰)

Molecular Comparison of Genomic 5' Region of *Maize Dwarf Mosaic virus (MDMV)* Golestan Isolate with other Cereal Potyviruses

F. S. MOSTAFAVI NEISHABURI¹ AND S. NASROLAHNEJAD^{2*}

1, 2, Graduate Student, and Associate Professor, Plant Pathology, Gorgan University of Agriculture and Natural Resources, Gorgan, Iran

(Received: April. 14, 2012 - Accepted: May. 9, 2012)

Abstract

Maize dwarf mosaic virus is one of the most important and most extensive viruses of maize in the world. In this paper investigated molecular comparison and nucleotide sequence analysis of coding regions of proteins of genomic 5' region of Maize dwarf mosaic with other isolate and other cereal potyviruses. In order to this, maize plants with mosaic symptoms and dwarfing were collected from Golestan province. After verification of plants by Elisa test against MDMV antiserum, an infected sample was selected for isolation of total RNA. Amplification of genomic 5' region has been conducted using five specific primer pair that was obtained 5 overlap segments including P1, HC-Pro, p3 و 6k1 genes, as well as 5'-UTR region of the genome and was obtained 3460bp. The comparative analysis of nucleotide sequences of MDMV isolates showed that the Iranian (Golestan) isolate have 95.7 and 92.3 percent similarity at the amino acid level and 90.5 and 85.1 percent at the nucleotide level with Bulgarian and Spanish isolates respectively, and with other homogeneous viruses, MDMV had similarity maximum with sorghum mosaic virus from Texas and sugarcane mosaic virus from china 72.9 and 72.3 percent respectively.

Keywords: Sequences, Genome, Feature molecular, Maize dwarf mosaic virus

چکیده

ویروس موزاییک کوتولگی ذرت (*Maize dwarf mosaic virus*, MDMV) یکی از مهم‌ترین و گسترده‌ترین ویروس‌های ذرت در دنیا می‌باشد. تحقیق حاضر به منظور مقایسه خصوصیات مولکولی و آنالیز ترادف نوکلئوتیدی نواحی کدکننده پروتئین‌های موجود در ناحیه ۵' ژنوم ویروس موزاییک کوتولگی ذرت و مقایسه آن با سایر جدایه‌های این ویروس و نیز سایر پوتی ویروس‌های غلات انجام گردید. بدین منظور گیاهان ذرت با علائم موزاییک و کوتولگی از استان گلستان جمع‌آوری شد. پس از تعیین آلودگی در آزمون الایزای غیرمستقیم با آنتی‌سرم اختصاصی MDMV یک نمونه آلوده جهت استخراج rRNA کل انتخاب شد. جهت تکثیر ناحیه ۵' ژنوم ویروس از ۵ جفت آغازگر اختصاصی استفاده شد که ۵ قطعه هم‌پوشان شامل 5'-UTR، P1، HC-Pro، P3 و 6K1 به اندازه کل ۳۴۶۰ جفت باز به دست آمد. آنالیزهای مقایسه‌ای ترادف نوکلئوتیدی این ناحیه از ژنوم MDMV نشان داد که جدایه ایران (گلستان) به ترتیب دارای شباهت ۹۵/۷ و ۹۲/۳ درصد در سطح آمینواسیدی و ۹۰/۵ و ۸۵/۱ درصد در سطح نوکلئوتیدی با جدایه‌های بلغارستان و اسپانیا است و در مقایسه با سایر ویروس‌های آلوده‌کننده غلات هم‌گروه با MDMV بیشترین شباهت با ویروس موزاییک سورگوم از تگزاس و ویروس موزاییک نیشکر از چین به ترتیب با ۷۲/۹ و ۷۲/۳ درصد به دست آمد.

واژه‌های کلیدی: ترادف، ژنوم، خصوصیات مولکولی، ویروس موزاییک کوتولگی ذرت

مقدمه

ذرت یکی از مهم‌ترین غلات در دنیا می‌باشد. عوامل مختلفی از جمله ویروس‌ها در کشت ذرت محدودیت ایجاد کرده‌اند. یکی از مهم‌ترین و گسترده‌ترین بیماری‌های ویروسی ذرت، ویروس موزاییک کوتولگی ذرت (Maize dwarf mosaic virus, MDMV) (Masumi *et al.* 2012) یک ویروس با RNA تک‌رشته‌ای مثبت با پیکره‌ای به ابعاد ۱۳×۷۵۰ نانومتر است (Kathrin *et al.* 2010). این ویروس در خانواده پوتی‌ویریده و جنس پوتی‌ویروس قرار دارد و ژنوم آن همانند سایر اعضای خانواده پوتی‌ویریده دارای تنها یک چارچوب‌ژنی (open reading frame, ORF) بوده، که یک پلی‌پروتئین بزرگ را کد می‌کند، در دو انتها دارای نواحی ترجمه‌نشونده (UTR) می‌باشد (Achon *et al.* 2007). ویروس‌های موجود در جنس پوتی‌ویروس که غلات را آلوده می‌کنند شامل ویروس موزاییک نیشکر (*Sugarcane mosaic virus, SCMV*)، ویروس موزاییک سورگوم (*Sorghum mosaic virus, SrMV*)، ویروس موزاییک پنی‌سیتوم (*Pennisetum mosaic virus, PeMV*) و ویروس موزاییک قیاق (*Johnson grass mosaic virus, JGMV*) (Masumi *et al.* 2012) در ایران، برای اولین بار پوتی‌ویروسی مشابه به MDMV از منطقه دشت ناز ساری گزارش شد و آن را سویه MM (maize mazandaran) نامیدند بر اساس آزمون‌های سرولوژیکی این ویروس با MDMV رابطه نزدیک، با IJMV رابطه‌ای دور و با SCMV رابطه ضعیف داشت اما با SrMV و JGMV فاقد واکنش بود. واکنش جدایه ذرت مازندران با آنتی‌سرم خودی و عدم واکنش جدایه‌های IJMV و SCMV با این آنتی‌سرم در آزمون AGD نشان داد که این جدایه در سطح این آزمون متفاوت از IJMV و SCMV است (Moiini *et al.*

2002). با استفاده از جفت آغازگرهای Pot1 و Pot2 قسمتی از ژن CP و NIB و با آغازگرهای اختصاصی MD3f، MD3r و MD1r با استفاده از RT-PCR قسمتی از ژن CP عوامل مولد موزاییک در ذرت ساری و اصفهان تکثیر شد و پس از همسانه‌سازی و تعیین ترادف وجود MDMV در استان‌های مازندران و اصفهان مورد تایید قرار گرفت (Masumi *et al.* 2004). با استفاده از روش‌های سرولوژیک و ترادف نوکلئوتیدی ناحیه CP-UTR، MDMV جدا شده از ذرت و قیاق مناطق دشت ناز ساری و اصفهان با سایر پوتی‌ویروس‌های غلات مورد مقایسه قرار گرفت و ارتباط سرولوژیک آن‌ها با یکدیگر گزارش شد و نشان داده شد که MDMV از مازندران با ویروس موزاییک در مرغ جیرفت (*Bermuda grass Jiroft virus, BJV*) و MDMV-G از آلمان ارتباط سرولوژیک نزدیک دارد و ارتباط ضعیفی با ویروس موزاییک ایرانی قیاق (IJMV) دارد و از ویروس موزاییک مرغ (BGMV) کاملاً متفاوت است (Zare *et al.* 2005).

پلی‌پروتئین ژنوم اعضای پوتی‌ویروس به ۱۰ پروتئین کوچک‌تر تقسیم می‌شود که هر یک در بین اعضای این خانواده نقش مشخصی دارند. پروتئین P1 که یکی از پروتئین‌های ویروسی است و باعث تجزیه بخشی از پروتئین ویروسی می‌گردد و متغیرترین پروتئین از نظر ترادف نوکلئوتیدی در میان سایر پروتئین‌های اعضای جنس پوتی‌ویروس است و اندازه آن بین ۳۰ تا ۶۳ کیلودالتون است با این وجود ناحیه کربوکسیلی این پروتئین نسبتاً حفاظت شده است (Adams *et al.* 2005). پروتئین P1 توسط انتهای ۵' ژنوم کد می‌شود که پروتئین‌سازی از جنس سرین است که در برش پلی‌پروتئین نقش دارد و به‌عنوان یک فاکتور کمک‌کننده در همانندسازی ژنوم عمل می‌کند انتهای آمینی P1 از لحاظ اندازه و ترادف بسیار متغیر است. نقش این پروتئین در

پروتئین‌هایی با نقش‌های اساسی در روند آلوده سازی گیاهان توسط ویروس‌های این گروه است لذا در این تحقیق ترادف نوکلئوتیدی این ناحیه از ژنوم ویروس موزاییک کوتولگی ذرت جدایه استان گلستان تعیین و مورد آنالیز مولکولی قرار گرفت و پایداری و ناپایداری این پروتئین‌ها در MDMV با سایر پوتی‌های غلات مورد مقایسه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

گیاهان ذرت آلوده به ویروس موزاییک کوتولگی ذرت در آزمون الایزای غیرمستقیم با استفاده از آنتی‌سرم اختصاصی ویروس تشخیص داده شدند. RNA capture kit با استفاده از mRNA طبق دستورالعمل شرکت سازنده از گیاهان ذرت آلوده استخراج گردید، نسخه‌برداری معکوس به روش معمول با آنزیم RT (Fermentas, Lithuania) Mmulv و آغازگر معکوس NIT (5'-GACCACGCGTATCGATGTCGAC(T) 3'-17) به مدت یک ساعت در ۴۲ درجه سانتی‌گراد انجام گردید (Ha et al. 2007). ترکیبات مورد استفاده در مخلوط واکنش نسخه‌برداری معکوس در جدول ۱ ذکر شده است. cDNA به دست آمده از این روش برای تکثیر قطعات کدکننده پروتئین‌های P1، HC-Pro، P3، 6k1 و نیز ناحیه 5'-UTR در واکنش PCR و با استفاده از جفت آغازگرهای اختصاصی هم‌پوشان (جدول ۲) که با استفاده از نرم‌افزار Fast PCR طراحی شدند، استفاده گردید. مواد و مقادیر استفاده از آن‌ها در هر واکنش PCR طبق جدول ۳ استفاده شد.

جدول ۱- مواد لازم در مخلوط واکنش نسخه‌برداری معکوس (RT)

نوع ماده	مقدار مواد (میکرولیتر)
dNTPs (10 mM)	۲
DTT (Dithiothreitol) (100 mM)	۲
Mmulv RT buffer (5x)	۱۰
Reverse Primer (N1T) 10μM	۳
Deionized water	۳۲

آلودگی پوتی‌ویروس‌ها هنوز مشخص نیست، اما شواهدی وجود دارد که P1 باعث افزایش توانایی پروتئین HC-Pro در سرکوب خاموشی ژن می‌شود (Rajamaki et al. 2005). همچنین این پروتئین موجب افزایش بیماری‌زایی ویروس‌های دیگر در آلودگی‌های مخلوط با برهم‌کنش هم‌افزایی می‌گردد و نیز در تعیین دامنه میزبانی نقش دارد (Adams et al. 2005). پروتئین کمکی^۱ (HC-Pro) دارای چندین نقش شناخته شده است که از آن جمله دخالت در انتقال ویروس با شته و نقش پروتئازی (Maia et al. 1996)، اهمیت در حرکت سیستیمیک و تحریک تکثیر ژنوم ویروس می‌باشند (Shen et al. 2010). ناحیه کربوکسیلی در HC-Pro پوتی‌ویروس‌ها اولین بار به صورت یک پروتئاز سیستئین در TEV^۲ تشخیص داده شد (Jin et al. 2007).

نقش پروتئین P3 به خوبی شناخته نشده است، اما تصور می‌شود که در بیماری‌زایی و ایجاد فنوتیپ پژمردگی در گیاه نقش داشته باشد (Urcuqui-Inchima et al. 2001). P3 یک پروتئین بسیار متنوع در پوتی‌ویروس‌هاست و شباهت بسیار اندکی در گونه‌های مختلف دارد و احتمالاً به همراه پروتئین 6K2، اتصال‌دهنده به غشا برای فرایند نسخه‌برداری می‌باشد. P3 به همراه P1 از متغیرترین ژن‌های پوتی‌ویروس‌ها می‌باشد (Adams et al. 2005). در مورد پروتئین 6K1 با وجود مطالعات گسترده در مورد بیولوژی مولکولی پوتی‌ویروس‌ها، اطلاعات اندکی در مورد آن وجود دارد و نقش آن به طور کامل شناخته نشده است اما مشخص شده که 6K1 دارای برهم‌کنش با سیستم غشایی است و در فرایند نسخه‌برداری ژنوم نقش به‌سزایی دارد (Waltermann and Maiss. 2006).

ناحیه ۵' ژنوم پوتی‌ویروس‌ها کدکننده

1. Helper component protease (HC-Pro)
2. Tobacco etch virus

جدول ۲- مشخصات جفت آغازگرهای مورد استفاده در آزمون RT-PCR برای تکثیر ناحیه ۵' ژنوم MDMV جدایه گلستان

نام آغازگر	ترادف آغازگرها	جهت	اندازه محصول PCR (جفت باز)	دمای اتصال (°C)	موقعیت جفت آغازگرها روی ژنوم
Pot F0 / SP3	5'-AAAAACAACAARACTCAACACAACAAC-3' 5'-GGAGCTGTTTCGCTGCAAAGG-3'	Forward Reverse	237	55	1-237
MDM1F / MDM1R	5'-CCTTGACAACCCTCGtGACG-3' 5'-GTGGCAAGCTATGGCGTTAT-3'	Forward reverse	669	55.5	118-787
MDM2F / MDM2R	5'-ACACAAAGGGCACAGTGGTC-3' 5'-CACAGACCCTCCAACGATGT-3'	Forward reverse	1216	53	636-1852
MDM3F / MDM3R	5'-ACAGAGTTTGGACAACCTG-3' 5'-GTCGCAGTCGAGTCAGCTCT-3'	Forward reverse	1158	55.5	1731-2889
MDM4F / MDM4R	5'-TCTCCGAAACATGGCGTGTG-3' 5'-GACATCAGGCTTTGCACTTCA-3'	Forward reverse	1198	55.5	2737-3935

جدول ۳- مواد و مقادیر استفاده شده از آن‌ها در آزمون واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز

نوع ماده	مقدار مورد استفاده در هر واکنش ۲۵ میکرولیتری (میکرولیتر)
Taq buffer (10×)	2.5
MgCl ₂ (50 mM)	0.75
dNTPS (10 mM)	0.5
forward -Primer (10 μM)	1
reverse -Primer (10 μM)	1
Taq DNA polymerase (5 U/μl)	0.25
cDNA	2
Deionized water	17

دستورالعمل سازنده در پلاسمید pJET1.2 وارد و در باکتری *Escherichia coli* استرین XL-Blue همسانه‌سازی گردید، پس از تشکیل کلنی‌های سفید و آبی در محیط‌کشت، کلنی‌های سفید که حاوی پلاسمید نوترکیب بودند به صورت جداگانه در ۲-۵ میلی‌لیتر محیط‌کشت مایع LB حاوی آمپی‌سیلین کشت و به مدت یک شب در انکوباتور دوار در ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای استخراج DNA پلاسمیدهای نوترکیب از سلول‌های باکتری از روش جوشاندن (Holmes and Quigley, 1981) استفاده گردید، پلاسمیدها سپس با کیت استخراج پلاسمید (Fermentas) طبق دستورالعمل شرکت سازنده استخراج گردیدند، همچنین محصول PCR تعدادی از آغازگرها به وسیله PCR Purification kit (Bioneer, South Korea) طبق دستورالعمل شرکت سازنده خالص‌سازی گردید و به همراه همسانه‌ها برای تعیین ترادف به شرکت Techdragon (هنگ کنگ) ارسال شدند.

در تحلیل‌های فیلوژنتیک تشابه ترادف نوکلئوتیدی این جدایه با ۲ جدایه اروپایی ویروس و سایر پوتی‌ویروس‌های غلات که ترادف نوکلئوتیدی آن‌ها در GenBank قرار داشت با نرم‌افزار Clustal X و

برنامه PCR برای تکثیر هر قطعه با دمای واسرشت‌سازی اولیه ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ دقیقه آغاز، با ۳۵ چرخه (شامل واسرشت‌سازی در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، اتصال جفت آغازگرها بر اساس دمای مندرج در جدول ۲ به مدت یک دقیقه و تکثیر در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه) ادامه و تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه به پایان رسید.

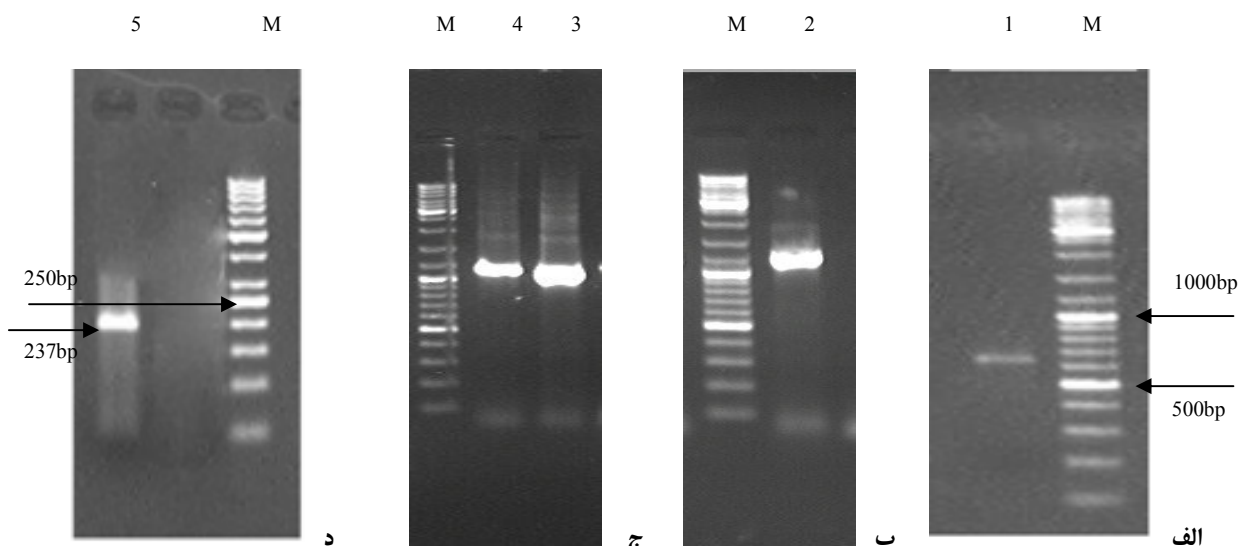
پس از مشاهده قطعات تکثیرشده در ژل آگارز ۱٪ و اطمینان از اندازه مورد انتظار هر یک از آن‌ها، قطعات تکثیرشده با استفاده از Clone JET PCR Cloning Kit (Fermentas, Lithuania) و طبق

موردنظر از ناحیه ۵' ژنوم جدایه گلستان MDMV را تکثیر کرد این قطعات شامل ناحیه UTR- ۵' به اندازه ۱۳۹ و نواحی P1، HC-Pro، P3 و 6K1 به ترتیب ۶۹۹، ۱۳۸۰، ۱۰۴۱ و ۲۰۱ جفت باز بودند (شکل ۱). با اتصال ترادف نوکلئوتیدی قطعات به یکدیگر با استفاده از نرم افزار DNAMAN قطعه‌ای به طول ۳۴۶۰ جفت باز به دست آمد که از ابتدای ژنوم ویروس موزاییک کوتولگی ذرت شروع شده و به انتهای ژن 6K1 ختم می‌شود (شکل ۲).

MegAlign بررسی شد. همچنین درخت فیلوژنی حاصل از هم‌ردیف‌سازی چندگانه ترادف‌های مذکور به روش maximum-parsimony با برنامه MEGA5 به دست آمد. در این تحلیل‌ها ویروس موزاییک رگه‌ای گندم (*Wheat streak mosaic virus*, WSMV) به عنوان outgroup مورد استفاده قرار گرفت.

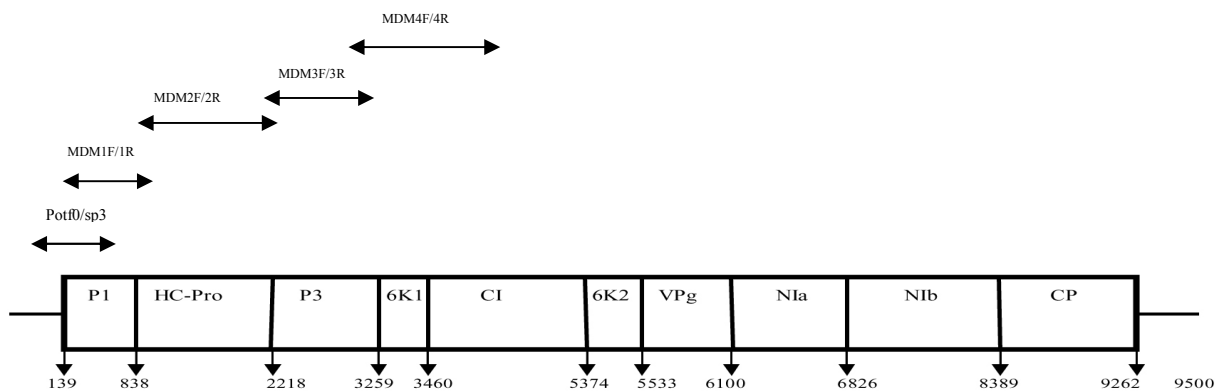
نتایج و بحث

جفت آغازگرهای اختصاصی طراحی شده قطعات



شکل ۱- نقوش الکتروفورز محصول واکنش‌های PCR در ژل آگارز ۱٪

راهک‌های ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ به ترتیب قطعات تکثیری توسط جفت آغازگرهای MDMV1F / 1R، MDMV2F / 2R، MDMV3F / 3R، MDMV4F / 4R، PotF0 / SP3 و MDMV4F / 4R، 3R، Gene ruler DNA ladder 1Kb مربوط به نشانگر M می‌دهد. راهک M مربوط به نشانگر 1Kb (Fermentas) می‌باشد.



شکل ۲- سازمان ژنوم MDMV و موقعیت جفت آغازگرهای استفاده‌شده روی ژنوم

در بین پروتئین‌های مورد بررسی P1 متغیرترین (۲۹/۸ درصد) پروتئین شناسایی شد، همچنین نتایج این تحقیق نشان داد که در پروتئین P1 موتیف حفاظت‌شده H₁₅₃(8)D₁₆₂_(31)G₁₉₄_S₁₉₆ و F₂₀₇IVRGR₂₁₂ که در پروسه تجزیه پلی‌پروتئین نقش دارد در جدایه MDMV ایران و سایر پوتی‌ویروس‌های غلات بررسی شده نیز وجود دارد که در برخی موقعیت آمینواسید I و V جابه‌جا بود (Rohozcova and Navratil, 2011). در پروتئین HC-Pro برای انتقال شته در اعضای پوتی‌ویروس موتیف‌های zinc finger-like metal binding FRNK و PTK وجود دارد که در MDMV-IRAN و سایرین نیز مشاهده شد که در مورد موتیف FRNK در JGMV به‌جای F, Y وجود داشت (Shen et al. 2010). همچنین موتیف G₁₋₂A₆₋₇ که در بیان ORF *pipo* نقش دارد و در پروتئین P3 قرار دارد در MDMV ایران نیز یافت شد که در موقعیت نوکلئوتید ۲۶۷۸-۲۶۸۵ به‌صورت GAAAAAAA مشاهده شد (Chung et al. 2008).

پس از هم‌ردیف‌سازی چندگانه ترادف نوکلئوتیدی کل ۳۴۶۰ جفت باز جدایه گلستان با جدایه بلغاری و ویروس (AJ001691.1) و جدایه اسپانیا (AM110758.1) تشابه ترادف آمینواسیدی این ناحیه در جدایه گلستان با جدایه‌های مذکور به‌ترتیب ۹۵/۷ و ۹۲/۳ درصد تعیین شد که این موضوع نشان‌دهنده شباهت بیشتر جدایه گلستان به جدایه بلغارستان در این قسمت می‌باشد. همچنین در مقایسه با سایر پوتی‌ویروس‌های غلات بیشترین شباهت با ویروس‌های موزاییک سورگوم از تگزاس و موزاییک نیشکر از چین به‌ترتیب ۷۲/۹ و ۷۲/۳ درصد مشاهده شد. درصد شباهت ترادف نوکلئوتیدی نواحی کدکننده هر پروتئین در مورد هر یک از ویروس‌ها نیز به‌صورت مجزا تعیین گردید (شکل‌های ۳ و ۴ و ۵ و ۶). در درخت فیلوژنی به‌دست‌آمده بر اساس ترادف نوکلئوتیدی قطعه ۳۴۶۰ جفت بازی انتهایی ۵ ژنومی جدایه گلستانی ایران در کنار جدایه‌های بلغارستان و اسپانیا قرار گرفت و گروه جدا شده از این‌ها گروهی شامل ویروس‌های موزاییک سورگوم می‌باشد (شکل ۷).

		Percent Identity																									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24		
Divergence	1	100.0	99.9	59.5	59.5	59.8	59.5	61.1	61.2	60.8	60.8	60.6	60.9	60.6	60.4	60.8	60.6	61.1	60.4	60.4	60.4	62.2	62.9	62.5	23.4	1	NC_003606.1
	2	0.0	100.0	59.5	59.5	59.8	59.4	61.0	61.1	60.7	60.7	60.5	60.8	60.5	60.3	60.7	60.5	61.0	60.3	60.3	60.3	62.1	62.9	62.4	23.4	2	Z26920.1
	3	100.0	100.2	100.0	93.5	65.7	61.7	62.0	61.5	61.5	61.4	61.4	60.5	60.3	63.2	63.3	62.9	61.6	61.6	61.8	62.0	63.2	61.6	24.6	3	AY642590.1	
	4	100.0	100.2	0.0	93.5	65.7	61.7	62.0	61.5	61.5	61.4	61.4	60.5	60.3	63.2	63.3	62.9	61.6	61.6	61.8	62.0	63.2	61.6	24.6	4	NC_007147.1	
	5	98.5	98.7	10.2	10.2	65.4	61.8	62.1	62.2	62.2	62.0	61.8	61.2	61.0	62.5	62.9	62.5	62.7	62.7	62.8	62.2	63.3	62.1	24.5	5	DO977725.1	
	6	106.6	106.6	73.0	73.0	74.2	66.3	66.8	66.1	66.1	66.1	65.8	66.0	66.2	63.8	63.5	63.6	69.2	69.2	69.6	66.1	66.8	66.1	24.1	6	U57358.2	
	7	108.1	108.1	93.2	93.2	92.8	76.1	98.5	95.6	95.6	95.7	94.7	92.8	92.6	79.0	78.7	80.9	68.0	68.0	68.9	71.3	71.8	70.7	24.7	7	EU091075.1	
	8	107.5	107.5	91.6	91.6	91.2	73.9	2.3	95.2	95.2	95.3	94.1	92.2	92.2	78.8	78.3	80.0	68.1	68.1	68.9	70.7	72.1	71.1	24.6	8	GU474635.1	
	9	110.6	110.6	94.7	94.7	90.7	77.1	7.2	7.8	100.0	99.3	96.9	93.3	94.1	78.6	78.8	81.1	68.0	68.0	68.7	71.4	71.4	70.4	24.4	9	NC_003398.1	
	10	110.6	110.6	94.7	94.7	90.7	77.1	7.2	7.8	0.0	99.3	96.9	93.3	94.1	78.6	78.8	81.1	68.0	68.0	68.7	71.4	71.4	70.4	24.4	10	AJ297628.1	
	11	112.0	112.0	95.8	95.8	91.7	77.0	7.0	7.7	1.0	1.0	96.7	93.7	94.3	78.7	78.9	80.9	68.0	68.0	68.9	71.5	71.4	70.4	24.3	11	AY569692.1	
	12	110.2	110.2	95.3	95.3	93.0	79.0	8.8	9.8	4.9	4.9	5.2	95.1	95.0	78.8	78.9	82.6	68.3	68.3	68.9	71.7	71.6	70.1	24.5	12	AF494510.1	
	13	111.7	111.7	101.0	101.0	96.6	77.8	12.3	13.4	11.3	11.3	10.5	8.0	96.6	77.7	77.7	80.0	67.9	67.9	68.7	71.4	72.6	70.6	24.3	13	AY149118.1	
	14	113.1	113.1	102.6	102.6	98.1	76.6	12.5	13.2	9.7	9.7	9.3	8.0	5.3	99.3	79.0	80.8	67.6	67.6	68.5	71.0	71.9	70.3	23.7	14	AY042184.1	
	15	111.0	111.0	85.0	85.0	89.0	88.0	42.6	43.2	43.6	43.4	42.8	46.4	41.8	96.9	85.6	67.8	67.8	68.6	70.2	70.4	70.5	25.3	15	AJ310103.1		
	16	112.7	112.7	84.6	84.6	86.9	89.9	43.4	44.6	43.0	43.0	42.7	42.5	46.4	42.7	5.0	85.9	68.0	68.0	68.5	70.5	70.0	70.5	25.1	16	AJ310102.1	
	17	108.7	108.7	87.0	87.0	87.0	88.7	37.4	39.8	36.8	36.8	37.3	32.7	39.6	37.8	27.3	26.6	68.9	68.9	68.9	70.2	69.6	69.9	26.1	17	AJ310105.1	
	18	112.6	112.6	93.7	93.7	88.0	63.5	78.9	78.5	78.9	78.9	79.0	77.0	79.1	81.1	80.3	79.3	75.0	100.0	96.9	69.0	68.5	68.6	23.9	18	NC_004035.1	
	19	112.6	112.6	93.7	93.7	88.0	63.5	78.9	78.5	78.9	78.9	79.0	77.0	79.1	81.1	80.3	79.3	75.0	0.0	96.9	69.0	68.5	68.6	23.9	19	AJ310197.1	
	20	113.1	113.1	92.4	92.4	87.4	62.0	75.1	74.8	76.1	76.1	75.2	74.2	75.6	77.2	77.0	77.3	75.7	4.9	4.9	69.5	69.0	69.5	24.1	20	AJ310198.1	
	21	102.3	102.3	91.7	91.7	90.5	76.8	67.2	69.6	66.5	66.5	66.2	65.4	66.7	68.1	70.6	69.4	71.0	74.2	74.2	72.0	91.1	89.8	27.7	21	AJ001691.1	
	22	97.6	97.6	84.9	84.9	84.4	73.7	65.2	63.7	66.6	66.6	66.6	65.8	61.8	64.6	69.8	71.5	73.7	76.8	76.8	74.2	15.5	89.4	28.9	22	MDVMIRAN	
	23	99.5	99.5	92.4	92.4	89.6	75.9	69.3	67.7	70.8	70.8	70.9	72.2	69.8	72.0	70.8	70.4	73.7	77.8	77.8	73.4	17.5	18.3	27.3	23	AM110758.1	
	24	156.8	157.1	155.2	155.2	157.8	153.7	149.0	151.0	152.6	152.6	154.7	151.0	154.7	162.0	140.3	142.5	130.3	157.9	157.9	154.0	119.5	110.1	119.1	24	EU914918.1	

شکل ۳- درصد شباهت و تفاوت جدایه MDMV ایران با پوتی‌ویروس‌های غلات براساس هم‌ردیف‌سازی چندگانه ترادف نوکلئوتیدی ناحیه کدکننده P1 توسط نرم‌افزار (MegAlign) DNASTAR

وجود موتیف‌های حفاظت‌شده در ترادف آمینواسیدی پروتئین‌های ناحیه ۵ ژنوم در ویروس‌های مورد بررسی نشان می‌دهد که در همه ویروس‌های این گروه نقش‌های اختصاصی برای هر پروتئین تعیین شده و تغییر و موتاسیون در هر یک از این قسمت‌ها باعث اختلال در نقش آن پروتئین در

کمک به آلوده‌سازی گیاه توسط ویروس می‌گردد، بنابراین با ایجاد تغییرات در این نواحی می‌توان کمک به‌سزایی در کنترل این ویروس‌ها نمود به‌عنوان مثال تغییر در موتیف‌های موجود در پروتئین HC-Pro که در انتقال با شته نقش دارند می‌تواند مانع از انتقال و در نتیجه محدودشدن فعالیت ویروس گردد.

Percent Identity

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23		
1	█	100.0	97.8	79.2	79.0	79.0	76.6	76.6	78.3	79.6	76.4	76.4	77.2	77.2	77.2	77.0	77.2	76.6	77.2	77.4	77.7	48.2	48.4	1	AY642590.1
2	0.0	█	97.8	79.2	79.0	79.0	76.6	76.6	78.3	79.6	76.4	76.4	77.2	77.2	77.2	77.0	77.2	76.6	77.2	77.4	77.7	48.2	48.4	2	NC_007147.1
3	2.2	2.2	█	79.0	79.0	78.7	76.6	76.6	78.1	79.2	76.1	76.1	77.0	77.0	77.0	76.8	77.0	76.4	77.2	77.0	77.2	47.7	47.9	3	DQ977725.1
4	24.5	24.5	24.8	█	98.0	96.5	82.0	82.0	84.2	85.9	83.1	83.1	83.9	83.9	83.9	84.2	84.4	83.7	83.3	83.5	83.9	46.2	46.4	4	MDIFAN
5	24.8	24.8	24.8	2.0	█	96.1	80.9	80.9	83.1	85.0	82.0	82.0	82.9	82.9	83.1	83.3	82.6	82.2	82.4	82.9	82.9	46.6	46.9	5	AJ001691.1
6	24.8	24.8	25.1	3.6	4.0	█	81.3	81.3	83.5	85.2	81.8	81.8	82.6	82.6	82.6	82.9	83.1	82.4	82.4	82.6	83.1	45.6	45.8	6	AM110758.1
7	28.2	28.2	28.2	20.7	22.1	21.6	█	100.0	97.6	90.5	80.3	80.3	81.1	81.6	81.6	81.3	80.9	80.3	82.4	82.4	82.0	45.1	45.3	7	NC_004035.1
8	28.2	28.2	28.2	20.7	22.1	21.6	0.0	█	97.6	90.5	80.3	80.3	81.1	81.6	81.6	81.3	80.9	80.3	82.4	82.4	82.0	45.1	45.3	8	AJ310197.1
9	25.7	25.7	26.0	17.9	19.3	18.7	2.4	2.4	█	92.4	82.2	82.2	83.1	83.5	83.5	83.3	82.9	82.2	84.6	84.6	84.2	45.3	45.6	9	AJ310198.1
10	23.9	23.9	24.5	15.7	16.9	16.5	10.3	10.3	8.0	█	92.4	82.4	83.3	83.5	83.5	83.3	82.6	83.7	83.9	84.6	47.9	48.2	10	U57358.2	
11	28.5	28.5	28.8	19.3	20.7	21.0	23.0	23.0	20.4	20.1	█	100.0	98.9	98.5	98.5	97.6	97.8	97.0	93.7	93.7	94.1	46.6	46.9	11	NC_003398.1
12	28.5	28.5	28.8	19.3	20.7	21.0	23.0	23.0	20.4	20.1	0.0	█	98.9	98.5	98.5	97.6	97.8	97.0	93.7	93.7	94.1	46.6	46.9	12	AJ297628.1
13	27.3	27.3	27.6	18.2	19.6	19.8	21.9	21.9	19.3	19.0	1.1	1.1	█	99.6	99.6	98.7	98.9	97.8	94.6	94.6	95.2	46.9	47.1	13	AY569692.1
14	27.3	27.3	27.6	18.2	19.6	19.8	21.3	21.3	18.7	18.7	1.5	1.5	0.4	█	100.0	98.9	99.1	98.0	94.8	94.8	95.4	47.1	47.3	14	AY149118.1
15	27.3	27.3	27.6	18.2	19.6	19.8	21.3	21.3	18.7	18.7	1.5	1.5	0.4	0.0	█	98.9	99.1	98.0	94.8	94.8	95.4	47.1	47.3	15	AF494510.1
16	27.6	27.6	27.9	17.9	19.3	19.6	21.6	21.6	19.0	18.7	2.4	2.4	1.3	1.1	1.1	█	98.5	97.4	94.1	94.1	94.8	46.9	47.1	16	AY042184.1
17	27.3	27.3	27.6	17.6	19.0	19.3	22.1	22.1	19.6	19.0	2.2	2.2	1.1	0.9	0.9	1.5	█	98.5	94.4	94.4	95.0	46.9	47.1	17	EU091075.1
18	28.2	28.2	28.5	18.4	19.8	20.1	23.0	23.0	20.4	19.8	3.1	3.1	2.2	2.0	2.0	2.7	1.5	█	93.7	93.7	94.1	46.6	46.9	18	GU474635.1
19	27.3	27.3	27.3	19.0	20.4	20.1	20.1	17.3	18.4	6.6	6.6	5.7	5.4	5.4	6.1	5.9	6.6	█	99.3	96.3	45.8	46.0	19	AJ310103.1	
20	27.0	27.0	27.6	18.7	20.1	19.8	20.1	20.1	17.3	18.2	6.6	6.6	5.7	5.4	5.4	6.1	5.9	6.6	0.7	█	96.5	46.2	46.4	20	AJ310102.1
21	26.6	26.6	27.3	18.2	19.6	19.3	20.7	20.7	17.9	17.3	6.1	6.1	4.9	4.7	4.7	5.4	5.2	6.1	3.8	3.6	█	46.4	46.6	21	AJ310105.1
22	84.6	84.6	85.8	90.3	89.0	92.3	93.6	93.6	92.9	85.2	89.0	88.4	87.7	87.7	88.4	88.4	89.0	91.6	90.3	89.6	█	99.8	99.8	22	NC_003606.1
23	84.6	84.6	85.8	90.3	89.0	92.3	93.6	93.6	92.9	85.2	89.0	89.0	88.4	87.7	87.7	88.4	88.4	89.0	91.6	90.3	89.6	0.0	█	23	Z26920.1

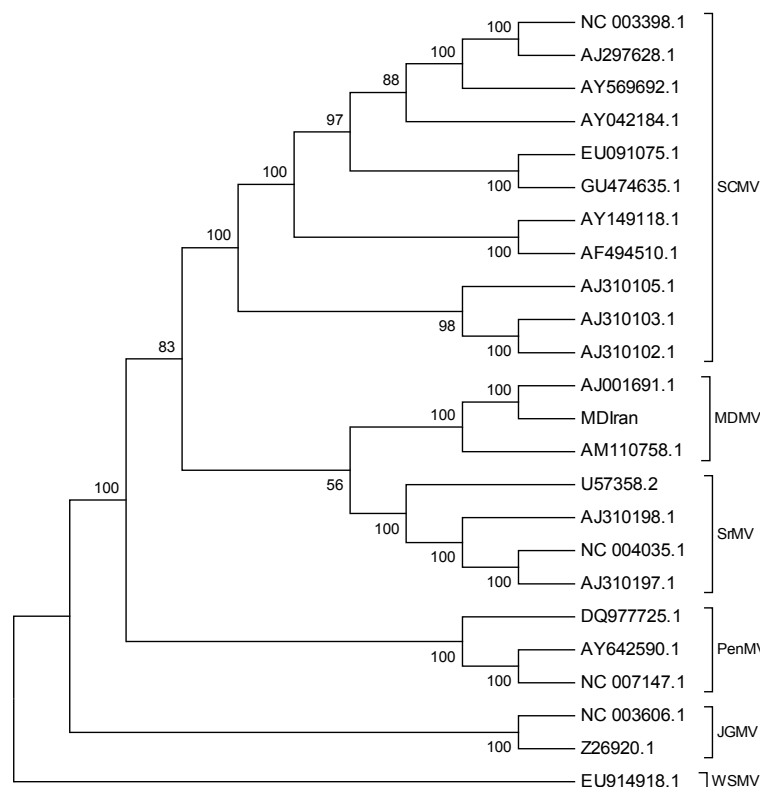
شکل ۴- درصد شباهت و تفاوت جدایه MDMV ایران با پوتی ویروس‌های غلات براساس هم‌ردیف‌سازی چندگانه ترادف نوکلئوتیدی ناحیه کدکننده HC-Pro توسط نرم‌افزار DNASTAR (MegAlign)

Percent Identity

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24		
1	█	99.7	48.6	48.6	48.6	49.9	49.9	49.8	50.1	49.9	50.0	50.6	50.4	50.5	50.3	51.2	50.4	50.4	50.6	50.2	49.1	48.1	49.4	32.5	1	NC_003606.1
2	0.0	█	48.3	48.3	48.4	49.6	49.6	49.7	49.8	49.7	49.8	50.4	50.2	50.3	50.1	51.0	50.2	50.2	50.4	50.0	48.9	47.9	49.2	32.8	2	Z26920.1
3	87.8	88.3	█	100.0	90.7	67.1	67.1	66.7	67.0	67.3	67.3	68.2	68.3	67.1	67.2	67.5	67.1	67.1	67.0	66.7	67.4	67.4	69.2	38.1	3	AY642590.1
4	87.8	88.3	0.0	█	90.7	67.1	67.1	66.7	67.0	67.3	67.3	68.2	68.3	67.1	67.2	67.5	67.1	67.1	67.0	66.7	67.4	67.4	69.2	38.1	4	NC_007147.1
5	87.8	88.0	10.2	10.2	█	85.7	65.7	65.5	65.6	66.0	66.1	67.4	67.6	65.8	66.4	66.9	67.7	68.0	66.6	66.6	68.2	68.6	69.0	37.6	5	DQ977725.1
6	83.3	83.8	44.3	44.3	46.9	█	100.0	99.1	98.6	91.6	92.0	86.4	87.7	83.6	83.1	81.2	71.5	71.5	71.4	71.8	69.8	69.0	68.5	38.2	6	NC_003398.1
7	83.3	83.8	44.3	44.3	46.9	0.0	█	99.1	98.6	91.6	92.0	86.4	87.7	83.6	83.1	81.2	71.5	71.5	71.4	71.8	69.8	69.0	68.5	38.2	7	AJ297628.1
8	83.5	83.8	44.9	44.9	47.4	0.8	0.8	█	98.9	91.8	92.1	86.1	87.4	83.3	82.8	81.1	71.8	71.8	71.7	72.3	69.8	68.8	68.2	38.3	8	AY042184.1
9	82.8	83.2	44.5	44.5	47.3	1.5	1.5	1.1	█	91.9	92.0	86.5	87.9	83.5	83.0	81.4	71.9	71.9	71.8	72.0	69.9	69.0	68.6	38.3	9	AY569692.1
10	83.4	83.5	44.0	44.0	46.4	9.2	9.2	8.8	8.8	█	97.3	87.2	87.7	82.8	83.0	82.8	71.5	71.5	71.6	71.3	69.5	69.7	69.6	38.4	10	EU091075.1
11	83.2	83.3	44.0	44.0	46.2	8.7	8.7	8.5	8.7	2.8	█	87.2	87.7	82.6	82.8	82.5	71.9	71.9	71.9	71.1	69.8	69.7	69.9	38.4	11	GU474635.1
12	81.1	81.2	42.2	42.2	43.7	15.8	15.8	16.1	15.5	14.6	14.6	█	98.3	83.4	83.8	83.5	72.2	72.2	72.4	70.4	69.4	69.5	69.6	38.6	12	AY149118.1
13	81.7	81.8	42.0	42.0	43.3	14.0	14.0	14.3	13.8	14.0	14.0	1.8	█	84.1	84.4	83.2	72.6	72.6	72.8	71.1	70.0	69.8	69.8	38.8	13	AF494510.1
14	81.5	81.6	44.1	44.1	46.6	19.1	19.1	19.4	19.3	20.2	20.5	19.4	18.5	█	97.8	85.1	71.9	71.9	71.9	71.9	69.1	69.4	69.5	38.0	14	AJ310103.1
15	82.1	82.3	43.9	43.9	45.4	19.8	19.8	20.1	19.9	19.9	20.2	18.9	18.1	2.3	█	85.2	71.9	71.9	72.0	72.0	69.0	69.4	69.9	38.2	15	AJ310102.1
16	78.8	79.2	43.4	43.4	44.4	22.5	22.5	22.1	20.1	20.5	19.2	19.6	17.1	17.0	█	97.9	71.9	71.9	71.0	69.4	70.0	69.1	38.0	16	AJ310105.1	
17	82.5	82.6	44.5	44.5	43.3	36.8	36.8	36.1	36.1	36.8	35.9	35.4	34.8	35.8	35.9	35.9	100.0	█	98.1	85.4	72.8	73.1	72.2	36.5	17	NC_004035.1
18	82.5	82.6	44.5	44.5	43.3	36.8	36.8	36.1	36.1	36.8	35.9	35.4	34.8	35.8	35.9	35.9	0.0	█	98.1	85.4	72.8	73.1	72.2	36.5	18	AJ310197.1
19	81.9	82.1	44.7	44.7	42.7	36.9	36.9	36.3	36.3	36.6	35.9	35.1	34.4	35.8	35.6	35.9	2.0	2.0	█	85.3	73.2	73.4	73.0	36.6	19	AJ310198.1
20	83.4	83.6	45.0	45.0	45.3	36.1	36.1	35.2	35.6	37.0	37.4	38.5	37.4	35.8	35.6	37.4	16.8	16.8	16.9	█	71.8					

		Percent Identity																									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24		
Divergence	1	100.0	98.1	53.8	53.8	53.8	52.6	52.6	53.8	53.8	53.8	53.2	51.9	51.3	51.9	51.9	54.5	54.5	53.8	56.4	53.8	51.3	53.2	40.4	1	NC_003606.1	
	2	0.0	100.0	53.5	53.5	53.5	51.6	51.6	52.8	52.8	53.5	53.5	52.8	50.9	49.1	49.7	50.3	53.5	53.5	52.8	57.9	52.8	50.3	52.2	39.7	2	Z26920.1
	3	72.4	69.7	100.0	91.5	68.7	68.7	68.2	68.2	68.2	67.2	66.7	67.2	69.2	70.1	68.7	68.7	67.7	67.7	68.7	70.4	69.2	72.1	71.7	43.6	3	AY642590.1
	4	72.4	69.7	0.0	100.0	91.5	68.7	68.7	68.2	68.2	67.2	66.7	67.2	69.2	70.1	68.7	68.7	67.7	67.7	68.7	70.4	69.2	72.1	71.7	43.6	4	NC_007147.1
	5	72.4	69.7	9.9	9.9	100.0	66.2	66.2	66.2	66.2	65.2	69.2	68.7	67.7	67.7	66.7	66.7	68.2	68.2	68.2	67.7	69.7	71.6	68.6	41.7	5	DQ977725.1
	6	75.9	74.8	29.6	29.6	35.9	100.0	98.5	88.1	88.1	87.1	87.1	87.1	82.1	80.6	77.6	79.6	67.7	67.7	68.2	68.8	65.2	66.7	68.1	43.6	6	AY149118.1
	7	75.7	74.6	29.5	29.5	35.8	1.3	100.0	89.6	89.6	88.6	87.1	87.1	81.1	79.6	76.6	78.6	68.2	68.2	68.7	69.3	65.2	66.7	67.5	44.2	7	AF494510.1
	8	72.4	71.3	33.8	33.8	38.4	10.5	9.0	100.0	98.0	88.6	87.6	78.6	78.6	76.6	78.6	79.1	69.2	69.2	69.7	66.1	69.2	67.7	67.5	40.4	8	NC_003398.1
	9	72.4	71.3	33.8	33.8	38.4	10.5	9.0	0.0	100.0	98.0	88.6	87.6	78.6	76.6	78.6	79.1	69.2	69.2	69.7	66.1	69.2	67.7	67.5	40.4	9	AJ297628.1
	10	71.5	71.5	34.1	34.1	38.7	10.5	9.0	1.3	1.3	100.0	87.6	86.6	78.1	76.1	78.6	79.1	67.7	67.7	68.2	66.7	68.7	66.7	66.5	39.1	10	AY042184.1
	11	72.4	71.3	38.4	38.4	32.7	12.7	12.8	12.9	12.9	13.0	1.3	100.0	98.0	79.1	77.1	76.6	78.1	67.7	67.7	68.2	66.1	69.7	66.5	42.3	11	EU091075.1
	12	74.3	73.2	37.2	37.2	33.8	12.7	12.8	12.9	12.9	13.0	1.3	100.0	79.6	78.6	77.1	78.1	68.2	68.2	68.7	65.1	69.2	70.6	67.5	42.3	12	GU474635.1
	13	77.7	76.6	30.7	30.7	33.8	20.7	21.6	22.6	22.6	23.6	23.5	24.4	100.0	90.5	81.6	82.6	69.2	69.2	69.7	65.6	72.1	73.6	70.7	39.1	13	AY569692.1
	14	80.0	80.7	28.5	28.5	34.6	23.2	24.2	25.1	25.1	26.2	26.1	25.1	12.1	100.0	79.6	79.6	68.2	68.2	68.2	66.7	71.1	71.6	69.6	42.9	14	AJ310105.1
	15	77.4	78.1	35.0	35.0	38.5	21.8	22.9	21.0	21.0	21.1	23.8	23.8	16.9	21.3	100.0	97.0	65.2	65.2	65.7	66.1	67.2	68.2	68.6	42.9	15	AJ310103.1
	16	77.4	78.1	35.0	35.0	38.5	20.0	21.0	21.0	21.0	21.1	23.8	23.8	16.9	21.3	1.3	100.0	66.2	66.2	66.7	66.1	67.7	68.7	67.0	43.6	16	AJ310102.1
	17	72.0	70.8	32.8	32.8	31.8	38.8	38.7	36.6	36.6	38.0	39.8	41.0	36.8	37.8	39.0	39.0	100.0	99.0	99.0	80.4	68.7	69.2	63.4	39.7	17	NC_004035.1
	18	72.0	70.8	32.8	32.8	31.8	38.8	38.7	36.6	36.6	38.0	39.8	41.0	36.8	37.8	39.0	39.0	0.0	100.0	99.0	80.4	68.7	69.2	63.4	39.7	18	AJ310197.1
	19	74.0	72.8	30.7	30.7	31.9	37.6	37.6	35.5	35.5	36.8	38.7	39.8	35.7	37.8	37.8	37.8	1.3	1.3	100.0	81.5	69.7	70.1	64.4	39.7	19	AJ310198.1
	20	63.8	63.8	23.8	23.8	29.8	33.2	33.2	37.6	37.6	37.5	36.5	37.6	37.5	35.2	35.3	35.3	22.0	22.0	20.0	100.0	62.4	61.9	63.0	41.7	20	U57358.2
	21	72.0	70.9	37.2	37.2	44.0	44.2	34.9	34.9	34.2	32.7	34.9	30.0	32.8	35.3	35.3	35.9	35.9	33.7	44.1	100.0	94.0	81.7	39.1	21	AJ001691.1	
	22	79.7	78.6	32.7	32.7	34.9	40.3	40.4	38.4	38.4	38.9	34.9	34.9	28.0	32.8	34.2	34.2	34.8	34.8	32.6	44.1	5.4	100.0	85.3	39.1	22	MDMVIRAN
	23	74.3	73.2	33.6	33.6	40.4	34.6	35.8	37.2	37.2	38.9	38.4	38.4	33.8	34.6	36.2	38.5	47.6	47.6	45.0	42.2	22.6	17.0	100.0	41.0	23	AM110758.1
	24	116.6	115.2	103.8	103.8	114.2	101.9	98.9	117.3	117.3	122.4	108.3	108.3	125.3	104.7	105.7	102.7	118.3	118.3	118.3	105.8	123.5	123.5	112.2	100.0	24	EU914918.1
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24			

شکل ۶- درصد شباهت و تفاوت جدایه MDMV ایران با پوتی ویروس‌های غلات براساس هم‌ردیف‌سازی چندگانه ترادف نوکلئوتیدی ناحیه کدکننده 6K1 توسط نرم‌افزار DNASTAR (MegAlign)



شکل ۷- درخت فیلوژنتیک رسم‌شده به روش maximum-parsimony بر اساس ترادف نوکلئوتیدی قطعه ۳۴۶۰ جفت بازی انتهای ۵' ژنومی (شامل نواحی P1، HC-Pro، P3، 6K1 و ناحیه 5'-UTR) از جدایه‌های MDMV و سایر پوتی‌ویروس‌های غلات (Sorghum mosaic virus, SrMV /Sorghum mosaic virus, SCMV) (Johnson grass mosaic virus, JGMV /mosaic virus, PeMV) (Wheat streak mosaic virus, WSMV) به‌عنوان گروه خارجی در نظر گرفته شده است.

REFERENCES

- Achon MA, Serrano L, Alanso-Duenas N, Porta C (2007) Complete genome sequences of Maize dwarf mosaic and Sugarcane mosaic virus isolates coinfecting maize in Spain. *Arch Virol.* 152: 2073–2078.
- Adams MJ, Antoniw JF, Beudoin F (2005) Overview and analysis of the polyprotein cleavage sites in the family Potyviridae. *Mol. Plant Pathol.* 6: 471–487.
- Chung WY, Miller WA, Atkins JF, Firth AE (2008) An overlapping essential gene in the Potyviridae. *Microbiology.* 105: 5897-5902.
- Ha C, Coombs S, Reville PA, Harding RM, Vu M, Dale JL (2007) Design and application of two novel degenerate primer pairs for the detection and complete genomic characterization of potyviruses. *Arch. Virol.* 153:25-36.
- Holmes DS, Quigley M (1981) A rapid boiling method for the preparation of bacterial plasmids. *Anal. Biochem.* 114: 193-197.
- Jin Y, Ma D, Dong J, Li D, Deng C (2007) The HC-pro protein of potato virus Y interacts with NtMinD of tobacco. *Mol Plant Microbe Interact* 20: 1505–1511.
- Kathrin P, Endre S, Gyongyver G, Ervin B (2010) Natural insertions within the N-terminal region of the coat protein of Maize dwarf mosaic potyvirus (MDMV) have an effect on the RNA stability. *Virus Gene.* 40:135-139.
- Maia IG, Haenni AL, Bernardi F (1996) Potyviral HC-Pro: A multifunctional protein. *J. Gen. Virol.* 77: 1335-1341.
- Masumi M, Zare A, Izadpanah K (2004) Analysis of 5' region of coat protein gene confirms presence of Maize dwarf mosaic virus (MDMV) in widely separated location in Iran. In: Proceeding of the secondary Iranian virology Congress. Iran, Tehran, 369-370.
- Masumi M, Zare A, Izadpanah K (2012) Biological, serological and molecular comparisons of potyviruses infecting poaceus plants in Iran. *Plant Pathology Iran.* 47:47-66.
- Moini A, Izadpanah K (2002) Identification and purification of a MDMV-like potyvirus of maize in Mazandaran. *Plant Pathology* 37: 147-159.
- Rajamaki ML, Kelloniemi J, Alminait A, Kekarainen T, Rabenstein F, Valkonen JP (2005) A novel insertion site inside the potyvirus P1 cistron allows expression of heterologous proteins and suggests some P1 functions. *Virology.* 342: 88–101.
- Rohozkova J, Navratil M (2011) P1 peptidase – a mysterious protein of family Potyviridae. *J.Biosci.* 36: 189-200.
- Shen W, Yan P, Gao L, Pan X, Wu J (2010) Helper component-proteinase (HC-Pro) protein of Papaya ringspot virus interacts with *Papaya calreticulin*. *Mol Plant Pathol* 11: 335–346.
- Urcuqui-Inchima S, Haenni AL, Bernardi F (2001) Potyvirus proteins: A wealth of functions. *Virus Res.* 74: 157-175.
- Waltermann A, Maiss E (2006) Detection of 6K1 as a mature protein of 6 kDa in plum pox virus-infected *Nicotiana benthamiana*. *J Gen Virol.* 87: 2381-6.
- Zare A, Masumi M, Izadpanah K (2005) Serological and biological properties of MDMV in Iran. In: Proceeding of the 16th Iranian plant protection Congress, Tabriz, Iran. 110.