فصلنامه گیاه‌پزشکی
دانشگاه آزاد اسلامی شیراز
۱۳۹۷ - ۹ (۴) : ۲۷۷-۲۸٤

بررسی ویروس پیچیدگی برگ زرد گوجه فرنگی در استان بوشهر

کاوس ایازپور*، طاهره زیارتی

گروه بیماری شناسی گیاهی، واحد جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران

(*) ayazpour@jia.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۹/۲۵ **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۸/۱۱/۱۰

چکیده

گوجه‌فرنگی یکی از سبزیجات مهم و بیماری پیچیدگی برگ زرد گوجه‌فرنگی از مهمترین بیماریهای گوجه‌فرنگی در سراسر دنیاست. طی فصل‌های زمستان ۱۳۹۱ و بهار ۱۳۹۲، به منظور بررسی ویروس پیچیدگی برگ زرد گوجه فرنگی در استان بوشهر از مزارع کشت گوجه فرنگی واقع در شهرستانهای تنگ ارم، دشتستان و چند بخش مربوط به آن از گیاهان مشکوک به آلودگی نمونه برداری شد. پس از استخراج DNA، واکنش زنجیره ای پلیمراز با استفاده از آغازگرهای sense و antisense منجر به تکثیر قطعه‌ای با اندازه تقریبی ۵۵۰ جفت باز از ژن پروتئین پوششی و حرکتی ویروس شد. محصول واکنش زنجیره ای پلی مراز متعلق به سه جدایه، برای تعیین ترادف انتخاب و به کره ارسال شدند. ژن‌های توالی یابی شده در بانک ژن جهانی ثبت گردیدند. تجزیه داده ها نیز به دنبال همردیف سازی آنها با بانک ژن جهانی با استفاده از نرم افزار clustalw انجام و درخت فیلوژنتیکی حاصل با نرم افزار mega6 با ۱۰۰۰ bootstrap ترسیم گردید. آنالیز های فیلوژنتیکی نشان داد که جدایه‌های مورد بررسی در دو گروه جداگانه A و B قرار گرفتند. در این تقسیم بندی در گروه A جدایه های دشتستان (KP635447) و تنگ ارم (KP635448) به جدایه های مورد بررسی در کشورهای دیگر از جمله چین (AY594194) و ونزوئلا (EF625895) و به جدایه های مورد بررسی در داخل کشور از جمله شیراز (GU076444) و تهران (KC106648، KC582150) نزدیک بودند. در گروه B جدایه‌ای دیگر از دشتستان (KP635446) به جدایه‌های کشورهای عربی از جمله عربستان (HM590558)، عمان (KF229721، KF229725) و به جدایه داخلی جیرفت (GU076450) نزدیک می‌باشد. نتایج حاصل نشان می‌دهد که ویروس پیچیدگی برگ زرد گوجه فرنگی در ایران و همچنین در یک منطقه (دشتستان) دارای تنوع ژنتیکی بوده و برای تعیین وجود نژادهای نوترکیب جدید نیاز به تحقیقات بیشتری بر روی جدایه های ایرانی می‌باشد. همچنین علائم متفاوتی با توجه به نوع رقم میزبان، منطقه جمع آوری نمونه و همچنین آلوده شدن گیاه در زمان های متفاوت ایجاد می کنند.

واژه‌های کلیدی: استخراج دی ان ای ، مگا٦، توالی یابی، آنالیز فیلوژنتیکی، بوشهر.

مقدمه

ویروس پیچیدگی برگ زرد گوجه فرنگی (*Tomato Yellow Leaf Curl Virus*, TYLCV) یکی از مخربترین ویروس هاي گیاهی در نواحی گرمسیري و نیمه گرمسیري جهان محسوب می شود که خسارت آن از ۵۰ تا۹۹ درصد در محصول گوجه فرنگی گزارش شده

است (Pico et al., 1996). این ویروس براي اولین بار از فلسطین اشغالی گزارش شده است (Cohen & Harpaz, 1964). در ایران نیز براي اولین بار در سال ۱۳۷۵ از استانهاي جنوبی ایران شامل سیستان و بلوچستان، کرمان، هرمزگان، بوشهر و خوزستان (Hajimorad et al., 1996) و به دنبال آن از استانهاي خراسان، اصفهان، مرکزي، گلستان (Bananej et al., 1998)، تهران (Shahriary & Bananej, 1998) و یزد (Bananej et al., 2008) گزارش شده است.

ویروس پیچیدگی برگ زرد گوجه‌فرنگی از تیره ویروس‌هاي دوقلو (Geminiviridae) بوده و به جنس بگوموویروس (*Begomovirus*) تعلق دارد. ژنوم اعضاي این تیره DNA-ي تک لاي حلقویوده و توسط سفیدبالک (*Bemisia tabaci*) به روش پایای چرخشی منتقل می شود. هر چند بیشتر جدایه‌هاي ویروس پیچیدگی برگ زرد گوجه فرنگی ژنوم دو قطعه‌اي دارند، اما ژنوم گروهی از آنها نیز تک بخشی است (Stanley et al., 2005). در بگوموویروس‌هاي با ژنوم تک بخشی، ژنوم داراي شش قاب خواندنی باز بوده که مسئول رمز کردن ژن‌هاي مسئول همانند سازي، تنظیم بیان ژن، پروتئین‌هاي پوششی و حرکتی، بروز علائم و بیماریزایی هستند (Czosnek, 2007). علاوه بر این DNA هاي تک رشته حلقوي کوچک به طول حدود ۱۳۵۰ جفت باز با اغلب TYLCV هاي تک بخشی همراه هستند که معمولاً مسئول تشدید علائم هستند (Briddon & Stanley, 2006).

اگرچه مهمترین میزبان این ویروس گیاه گوجه فرنگی است، ولی در میزبان های دیگری، از جمله لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) (Navas-Castillo et al,, 1999)، فلفل (*Capsicum annum*) (Reina et al, 1999) و تاجریزی (*Solanum nigrum*) (Bedford et al, 1998) نیز ایجاد بیماری می کند. در حالی‌که علف های هرزی نظیر ملوا پارویفلورا (*Malva parviflora*) هیچ گونه علائمی از خود نشان نمی دهد علف‌های هرزی نظیر آکوتوم سیناکوم (*Acutum cynachum*) و داتوره (*Datura stramonium*)، علائم مشخصی دارند. این ویروس به طور طبیعی به گیاه زینتی یوستما گرندی (*Eustoma grandi*) خسارت جدی وارد می کند و به طور مصنوعی تنباکو (*Nicotiana* sp.) و گیاه داتوره را می تواند آلوده کند (Cohen et al, 1995).

ویروسهاي ایجاد کننده پیچیدگي برگ گوجه فرنگي مانند سایر بگموویروس‌ها توسط سفید بالك توتون (*Bemisia tabaci*) به صورت پایا و گردشي منتقل مي شوند. در سال‌هاي اخیرگسترش این ویروس‌ها با گسترش جهاني بیوتیپ B حشره همراه بوده است. این بیوتیپ نسبت به بیوتیپ‌هاي دیگر، قدرت باروري و زاد و ولد بیشتري دارد. همچنین دامنه میزباني وسیع‌تر و رفتار تغذیه‌اي آن با تهاجم بیشتري همراه است (Czosnek & Laterrot, 1997).

ویروس پیچیدگی برگ زرد گوجه‌فرنگی در گیاه گوجه‌فرنگی، بسته به مرحله رشدی گیاه، زمان ایجاد بیماری، شرایط محیطی و نوع رقم گیاه علائمی شامل کوتولگی شدید، ریز برگی، جمع شدن برگ به سمت بالا، کلروز از حاشیه برگ، ریزش گل و تا حدودی کاهش محصول ایجاد می‌کند (Moriones & Navas-Castillo, 2000).

از آنجایی که استان بوشهر دارای سطح زیر کشت وسیعی از گوجه‌فرنگی و همچنین دارای تعداد زیادی گلخانه تولید نشاء می‌باشد که به استانهای مجاور نشاء ارسال می‌کند بنابراین بیماری ویروسی مذکور به عنوان یک خطر جدی برای مزارع گوجه فرنگی به حساب می‌آید. یکی از روش‌های مدیریتی این بیماری شناسایی کانون‌های پراکندگی، نحوه فعالیت ناقل و روش‌های پایداری آن در مزارع از سالی به سال دیگر می‌باشد (Czosnek, 2007).

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌های آلوده از مزارع گوجه‌فرنگی استان بوشهر

طی فصل‌های زمستان ۱۳۹۱ و بهار ۱۳۹۲ به منظور تعیین پراکندگی و بررسی فیلوژنتیکی عامل بیماری پیچیدگی برگ زرد گوجه فرنگی از مناطق عمده گوجه فرنگی کاری استان بوشهر که عبارت بودند از شهرستان‌های تنگ ارم، برازجان و بخش‌های مربوط به شهرستان برازجان بازدید به عمل آمد. پس از شناسایی مزارع آلوده نمونه‌های مشکوک از مزارع گوجه فرنگی که دارای علائم پیچیدگی شدید برگ همراه با کوتولگی و زردی در حاشیه برگ‌ها، ریزش گل و کوتولگی گیاه بودند جمع‌آوری و سپس به آزمایشگاه منتقل گردیدند. سعی شد که در هر منطقه بسته به سطح زیر کشت حداقل از تعداد ۱۰ مزرعه بازدید به عمل آمده و از هر مزرعه بسته به سطح آلودگی تعداد دو تا ده نمونه گرفته شد.

شکل ۱- گیاهان گوجه‌فرنگی دارای علائم ویروس TYLCV در مزارع گوجه فرنگی دشتستان و تنگ ارم.

Figure 1. Tomato Plants with symptoms of TYLCV in tomato fields of Dashtestan and Tang -e- Eram.

استخراج DNA

به منظور ردیابی ویروس در گیاهان آلوده با واکنش زنجیره ای پلیمراز، ابتدا دی ان ای کل گیاه طبق روش دلاپورتا و همکاران (Dellaporta et al., 1983) با اندکی تغییراستخراج شد. بافر استخراج شامل ۱/۵۷۶ گرم Tris-HCl، ۲/۹۲ گرم NaCl، ۱/۸۶ گرم EDTA، ۱ گرم SDS و ۷۰۰ میکرولیتر ۲-مرکاپتواتانول در حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر بود.

واکنش زنجیره ای پلیمراز با استفاده از آغازگرهای اختصاصی

توالی جفت آغازگرهای مورد استفاده در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز که بخشی از ژن‌های پوشش پروتئینی و پروتئین حرکتی با طول تقریبی ۵۵۰ جفت باز را تکثیر می‌کرد عبارت بودند از: TY1(Sense): 5′GCCATGTATCGGAAGCC3′ و TY2(Antisense): 5′GGATTAGAGGCATGCGTAC3′. واکنش زنجیره ای پلیمراز در حجم ۲۵ میکرولیتری شامل یک میکرولیتر DNA، ۲/۵ میلی مولار $MgCl_2$، ۲۰۰میکرومولار از هر کدام از نوکلئوتیدهای چهارگانه(dTTP, dGTP,dCTP,dATP)، ۰/۲۵. میکرومولار از هر کدام از آغازگرهای اختصاصی و دو واحد از آنزیم Taq پلی‌مراز (شرکت سیناژن) در بافر واکنش انجام پذیرفت. چرخه دمایی PCR شامل یک چرخه ی واسرشتگی اولیه به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد و به دنبال آن ۳۰ چرخه شامل دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، دمای ٥٦ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه و دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵۰ ثانیه و امتداد نهایی شامل ۵ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی گراد ، بود. تکثیر قطعات DNA با الکتروفورز در ژل آگارز یک درصد مورد بررسی قرار گرفت.

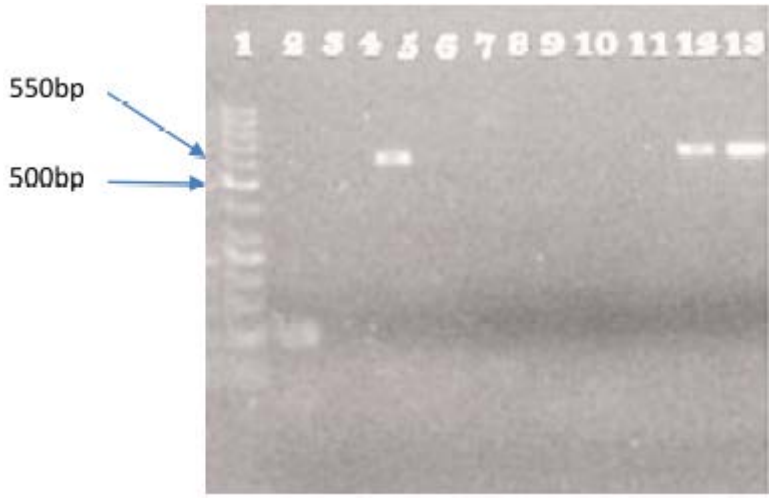
تعیین توالی ژنومی و ثبت توالی در بانک ژن جهانی

محصول PCR سه جدایه جهت تعیین توالی به کره جنوبی ارسال و توالی آن‌ها مشخص گردید. سه توالی ژنی مشخص شده در بانک ژن جهانی ثبت و شماره ثبت (Accession number) دریافت گردید.

نتایج و بحث

نتایج آزمون واکنش زنجیره ای پلیمراز

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با استفاده از آغازگرهای sense و antisense روی نمونه‌های شهرستان‌های تنگ ارم، دشتستان و چندین مرکز اطراف آن انجام گردید. نتایج آزمون واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، آلودگی به ویروس پیچیدگی برگ زرد گوجه فرنگی در ۲۰% نمونه‌های مورد بررسی را به اثبات رساند. در نمونه های ذکر شده قطعه ژنومی به طول ۵۵۰bp که مورد انتظار بود تکثیر گردید (شکل ۲).



شکل۲- نتایج آزمون واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز جدایه‌ها روی ژل آگارز ۱ درصد. چاهک شماره ۱ مارکر، چاهک های٤ و ۱۲ جدایه های دشتستان و چاهک شماره ۱۳ جدایه تنگ ارم می باشد.

Figure 2. PCR results of Isolates on 1% agarose gel. 1 Marker, 4 and 12 Dashtestan isolates, 13 Tang -e- Eram isolate.

مقایسه توالی‌های دشتستان و تنگ ارم با سایر توالی‌های جهان

پس از ثبت توالی‌ها در بانک ژن جهانی، به منظور تعیین جایگاه تاکسونومیکی جدایه‌های ویروس پیچیدگی برگ زرد گوجه فرنگی تنگ ارم، دشتستان و مراکز اطراف با جدایه‌های ثبت شده در سایر نقاط دنیا با استفاده از برنامه کلاستال دبلیو (clustal w) و مگا ٦ درخت فیلوژنتیکی آن ترسیم گردید (شکل ۳). توالی‌های مورد بررسی با شماره‌های Kp635446, Kp635447, Kp635448 در بانک ژن جهانی ثبت شدند.

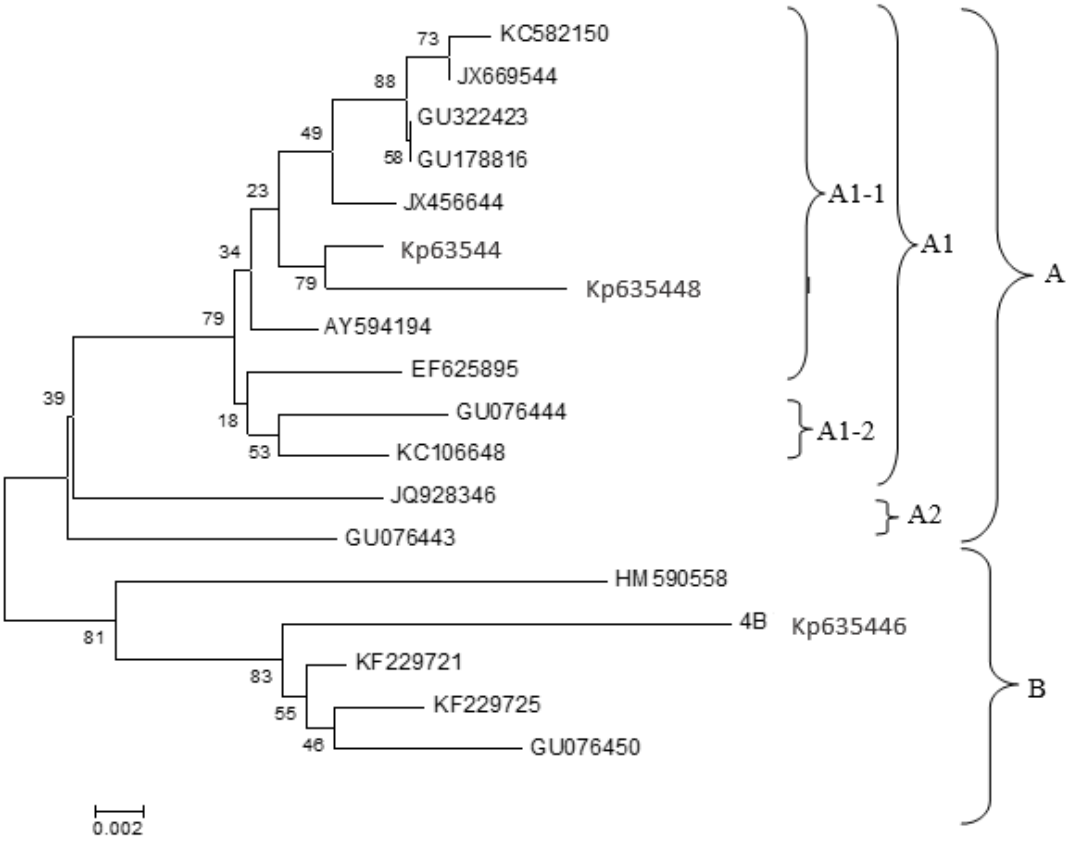
بر اساس درخت تکاملی ترسیم شده، جدایه های مورد بررسی در دو گروه جداگانه قرار گرفته اند که با حروف *A* و *B* نامگذاری شدند. گروه *A* به دو زیر گروه *A1* و *A2* و زیر گروه *A1* به دو زیر گروه A1-1 و A1-2 تقسیم شدند. در گروه A1-1 هشت جدایه شامل جدایه های KP635447 (دشتستان) و KP635448 (تنگ ارم) به همراه جدایه های JX669544 (چین)، GU322423 (هاوایی)، GU178816 (استرالیا)، JX456644 (چین)، AY594194 (چین)، KC582150 (تهران) و در زیر گروه A1-2 سه جدایه EF625895 (ونزوئلا)، GU076444 (شیراز) ، KC106648 (تهران) نزدیک در کنار یکدیگر قرار گرفتند. زیر گروه A2 شامل جدایه GU076443 (میناب) و جدایه JQ928346 (مشهد) می باشند. گروه B دربرگیرنده ی جدایه های Kp635446 (دشتستان)، HM590558 (عربستان)، KF229721 (عمان)، KF229725 (عمان) و GU076450 (جیرفت) بود.

این بیماری برای اولین بار از جنوب ایران گزارش شد و به سرعت در کشور گسترش پیدا کرد؛ به صورتی که در حال حاضر وقوع این بیماری بسیار رایج شده است (Hajimorad et al., 1996). با توجه به گزارش لیفوور و همکاران (Lefeuvre et al., 2010) از بین ۷ استرین توصیف شده در دنیا ۵ استرین در ایران وجود دارد و این تنوع وسیع ویروس نسبت به سایر کشورها را نشان می دهد. طبق نتایج حاصل از پژوهش شیرازی و همکاران (Shirazi et al., 2012) جدایه های ایران حداقل در دو گروه قرار می‌گیرند. گروه اول جدایه های استان های هرمزگان، کرمان و خوزستان را شامل می شود که رابطه نزدیکی با سویه گزارش شده از کشور عمان(TYLCV-Albitaneh) نشان می دهند و گروه دوم شامل جدایه های استان های بوشهر، فارس و مرکز ایران که در کنار سویه های گزارش شده از مصر (TYLCV-Egypt) و فلسطین اشغالی (TYLCV-Mid) قرار می‌گیرند. در تحقیق حاضر نیز جدایه های مورد بررسی در دو گروه *A* و *B* قرار گرفتند که گروه *A* به دو زیر گروه *A1* و *A2* و زیر گروه *A1* به دو زیر گروه A1-1 و A1-2 تقسیم بندی شدند و جدایه تنگ ارم(KP635448) و دشتستان (KP635447) در زیر گروه A1-1 قرار گرفتند که رابطه نزدیکی با سویه گزارش شده از شیراز (Gu016444) نشان می دهند. این مورد با نتایج شیرازی و همکاران (Shirazi et al., 2012) مطابقت دارد.

جدایه دیگری از دشتستان (KP635446) با سویه گزارش شده از کشور عمان (KF229725 وKF229721) رابطه نزدیک دارد که این نتیجه با نتایج بدست آمده از تحقیق شیرازی و همکاران (Shirazi et al., 2012) مطابقت نداشته است. یعنی جدایه دشتستان در تحقیقات شیرازی و همکاران با سویه های گزارش شده از مصر و فلسطین اشغالی شباهت داشت و نتایج حاصله نشان می دهد که ویروس فوق در ایران و همچنین در یک منطقه دارای تنوع ژنتیکی بسیاری بوده و تعیین وجود نژادهای نوترکیب جدید نیاز به تحقیقات بیشتری بر روی جدایه های ایرانی می باشد.

در تحقیق انجام شده توسط مرادپور و ایازپور (Moradpour & Ayazpour, 2016) جدایه‌ای از میناب (KP635443) با سویه گزارش شده از کشور عمان (KF2299721 و KF229725) رابطه نزدیک دارد و دو جدایه دیگر از بندر لنگه که شامل KP635444 و KP635445 می‌باشند و بصورت مجزا در گروه B قرار گرفتند. جدایه KP635443 از میناب با جدایه بررسی شده از استان های کرمان و خوزستان هم خوانی دارد. در مجموع با توجه به موارد فوق می توان نتیجه گرفت که سویه های این ویروس در مناطق مختلف ایران رو به گسترش هستند و مرز خاصی برای سویه ها نمی توان مشخص کرد. همچنین ویروس پیچیدگی برگ زرد گوجه فرنگی در ایران و

همچنین در یک منطقه (دشـتسـتان) دارای تنوع ژنتیکی بوده و برای تعیین وجود نژادهای نوترکیب جدید نیاز به تحقیقات بیشتری بر روی جـدایـه هـای ایرانی می باشـد و همچنین علائم متفاوتی با توجه به نوع رقم میزبان، منطقه جمع آوری نمونه و همچنین آلوده شدن گیاه در زمان های متفاوت ایجاد می کنند.



شـکل ۳- درخت فیلوژنتیکی حاصـل از همردیف سـازی جدایه‌های ویرس پیچیدگی برگ زرد گوجه فرنگی به روش maximum parsimony در نرم افزار mega6

Figure 3. Maximum Parsimony Phylogenetic tree of TYLCV isolates by Mega6 software.

منابع

Bananej, K., Ahoonmanesh, A. & Shahraeen, N. 1998. Occurrence and identification of *Tomato yellow leaf curl virus* from Khorasan province of Iran. *Proceeding of the 13th Iranian Plant Protection Congress, Volume II, 23-27 Aug., 1998, Agricultural Research and Education Organisation (AREO), Karaj, Iran. p. 193.*

Bananej, K., Vahdat, A. & Hoseini-salekdeh, G. 2008. Begomoviruses associated with yellow leaf curl disease of tomato in Iran. *Journal of Phytopathology*, 10: 434-439.

Bedford, I.D., Kelly, A., Banks, G.K., Briddon, R.W., Cenis, J.L. & Markham, P.G. 1998. *Solanum nigrum*: an indigenous weed reservoir for a *tomato yellow leaf curl geminivirus* in southern Spain. *European Journal of Plant Pathology*, 104: 221-222.

Briddon, R. & Stanley, J. 2006. Subviral agents associated with plant single-stranded DNA viruses. *Virology*, 344:198-210.

Cohen, J., Gera, A., Ecker, R., Ben-Joseph, R., Perlsman, M., Gokkes, M., Lachman, O. & Antignus, Y. 1995. Lisianthus leaf curl-a new disease of lisianthus caused by *Tomato yellow leaf curl virus*. *Plant Disease*, 79:416-420.

Cohen, S. & Harpaz, I. 1964. Periodic rather than continual acquisition of new tomato virus by its vector, the tobacco withefly (*Bemisia tabaci* Gennadius). *Entomologia Experimentalis et Applicata*.7: 155-166.

Czosnek, H. & Laterrot, H. 1997. A worldwide survey of tomato yellow leaf curl viruses. *Archives of virology*, 142: 1391-1406.

Czosnek, H. 2007. Tomato Yellow Leaf Curl Virus Disease, Management, Molecular Biology, Breeding for Resistance. *Published by Springer Dordrecht*, The Netherlands.

Dellaporta, S.L., Wood, J. & Hicks, J.B. 1983. A plant DNA minipreparation: version II. Plant molecular biology reporter, 1(4): 19-21.

Hajimorad, M. R., KheyrPour, A., Alavi, V., Ahoonmanesh, A., Bahar, M., Rezaian, M.A. & Gronenborn, B. 1996. Identification of whitefly transmitted *tomato yellow leaf curl geminivirus* from Iran and a survey of its distribution with molecular probes. *Plant Pathology*, 45: 418-425.

Lefeuvre, P., Martin, D.P., Harkins, G., Lemey, P., & Gray, A.J.A. 2010. The Spread of *Tomato Yellow Leaf Curl Virus* from the Middle East to the World. *PloS Pathogens*. 6: e1001164. doi:10.1371/journal.ppat.1001164.

Moradpour, N. & Ayazpour, K. 2016. Phylogenetic Comparison of Three Isolates of *Tomato Yellow Leaf Curl Virus* from Hormozgan Province (Iran) and World Isolates of Virus. *International Journal of Biology, Pharmacy and Allied Sciences.* 5: 191-197.

Moriones, E. & Navas-Castillo, J. 2000. *Tomato yellow leaf curl virus*, an emerging virus complex causing epidemics worldwide. *Virus Research.* 71: 123-134.

Navas-Castillo, J., Sanchez-Campos, S., Diaz, J.A., Saez-Alonso, E. & Moriones, E. 1999. *TomatoYellow Leaf Curl Virus*-Is causes a novel disease of common bean and severe epidemics in tomato in Spain. *Plant Disease*. 83: 29–32.

Pico, B., Diez, M.J. & Nuez, F. 1996. Viral diseases causing the greatest economic losses to the tomato crop: The *tomato yellow leaf curl virus* - A review. *Scientia Horticulturae.* 67: 151-196.

Reina, J., Morilla, G., Bejarano, E., Rodriguez, M. & Janssen, D. 1999. First report of *Capsicum annuum* plants infected by *tomato yellow leaf curl virus*. *Plant Disease*. 83:1176-1176

Shahriary, D. & Bananej, K. 1998. Occurrence of *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) in tomato fields of Varamin. *Journal of Applied Entomology and Phytopathology*. 65: 29–30.

Shirazi, M., Mozafari, J., Rakhshandehroo, F., & Shams-Bakhsh, M. 2012. Genetic Diversity and Distribution of *Tomato yellow leaf curl virus* in Fields and Greenhouses of Iran. *Journal of agricultural biotechnology*. 4: 29-41 (In Persian).

Stanley, J., Bisaro, D.M., Briddon, R.W., Brown, J.K., Fauquet, C.M., Harrison, B.D., Rybicki, E.P. & Stenger, D.C. 2005. Geminiviridae. In: Fauquet, C.M., Mayo, M.A., Maniloff, J., Desselberger U., Ball, L.A., (Eds.), VIIIth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier/Academic Press, London, pp. 301–326.

Plant Protection Journal
(Islamic Azad University, Shiraz Branch)
2018 – **9** (**4**): 277-284

Evaluation of Tomato Yellow Leaf Curl Virus in Bushehr Province

Kavous Ayazpour*, Tahereh Ziarati
Department of Plant Pathology, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran, (*) ayazpour@jia.ac.ir

Abstract
Tomato is one of the most important vegetables and Tomato Yellow Leaf Curl Virus (TYLCV) is one of the most important viral disease of tomato in worldwide. In order to study the situation of TYLCV in Bushehr province, sampling of tomato plants with symptoms of virus was done during winter and spring of 2013. Samples were collected from farms of Tang Eram and Dashtestan areas. After DNA extraction , a part of coat protein gene (about 550 pb) was amplified using specific primers. Amplified segments were separated via electrophoresis and sequenced. For comparison and phylogenetic analysis, the sequences Blasted in Gene bank and using CLUSTALW and Mega4 software the phylogenetic tree was drawn via maximum parsimony method. TYLCV Phylogenetic analysis showed that all isolates were divided into two clades named as A and B. In clade A isolates of Dashtestan (KP635447) and Tang Eram (KP635448) were closed to isolates of China (AY594194) and Venezuela (EF625895) and some Iranian isolates including GU076444 from (Shiraz), KC106648 and KC 582150 from (Tehran). In clade B another isolates of this study from Dashtestan was closed to Arabic countries isolates including HM590558 from Saudi Arabia, KF229721 and KF229725 from Ammanand Iranian isolates of GU076450 from Jirof. Results showed variation among Bushehr province. Due to the results of this study can conclude that there is variation among isolates of Bushehr province and requires further studies on the existence of recombinant strains in Iranian samples.

Keywords: DNA extraction, Phylogenetic analysis, Sequencing, Mega6, Bushehr.