



Investigation of phylogenetic relationships and genetic structure of Iranian isolates of *Cotton leaf curl Gezira virus*

Mohamad Hamed Ghodoum Parizipour¹, Aminallah Tahmasebi^{2*}, Ashkan Asgari²

¹ Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.

² Department of Agriculture, Minab Higher Education Center, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran,
Email: a.tahmasbi@hormozgan.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Full Paper

Article history:
Received: 2024-9-18
Accepted 2024-10-6

Keywords:
Cotton cultivation
Genetic diversity
Natural selection pressure
Plant virus

ABSTRACT

Background and objectives: *Cotton leaf curl Gezira virus (CLCuGeV)* is a significant pathogen that annually reduces cotton yields in regions where the crop is cultivated. The virus genome consists of a single-stranded circular DNA, encapsidated as a 2.8-kilobase segment in twin particles. It contains six genes, two of which are located on the virion strand (V1 and V2), and four on the complementary strand (C1–C4). This study aims to investigate the phylogenetic relationships among Iranian isolates of CLCuGeV, reported from different hosts and geographical locations, as well as to analyze the genetic structure of the virus population by examining nucleotide polymorphisms within the complete genome of these isolates.

Materials and methods: Eight nucleotide sequences of Iranian CLCuGeV isolates were extracted from the GenBank database and analyzed. Sequence alignment was performed followed by the construction of a phylogenetic tree. Nucleotide polymorphism analysis was conducted to identify insertion-deletion polymorphisms (InDels) among the sequences. Additionally, non-synonymous (dN) and synonymous (dS) substitution rates, along with the dN/dS ratio, were calculated to assess the natural selection pressure on the nucleotide sequences.

Results: Phylogenetic analysis revealed that the Iranian CLCuGeV isolates clustered according to their host and geographical origin. Nucleotide polymorphism analysis identified eight haplotypes, with 247 polymorphic loci. Haplotype and nucleotide diversity were calculated as 1 and 0.03633, respectively, while the average number of nucleotide differences was 99.429. No InDel polymorphism was observed among the sequences, and the dN/dS ratio was -0.08779, indicating negative selection pressure. Furthermore, nine recombination events were detected at various nucleotide positions.

Conclusion: The findings suggest that genetic variability in the genome sequences of Iranian CLCuGeV isolates may influence key viral processes such as transcription, replication, and pathogenicity. This genomic diversity could potentially expand the virus's host range in the future or enable the virus to overcome resistance in

current cotton cultivars.

Cite this article: Ghodoum Parizipour, M.H., Tahmasebi, A., Asgari, A. (2024). Investigation of phylogenetic relationships and genetic structure of Iranian isolates of *Cotton leaf curl Gezira virus*. *Iranian Journal Cotton Researches*, 12 (1), 29-40.



© The Author(s).

DOI: 10.22092/ijcr.2024.367077.1226

Publisher: Cotton Research Institute of Iran



بررسی روابط فیلوژنتیکی و ساختار ژنتیکی جدایه‌های ایرانی ویروس جزیرای پیچیدگی برگ پنبه

محمدحامد قدوم پاریزی پور^۱، امین‌اله طهماسبی^{۲*}، اشکان عسگری^۲

^۱ گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران.

^۲ گروه کشاورزی، مجتمع آموزش عالی میناب، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران، رایانامه: a.tahmasbi@hormozgan.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
<p>نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی</p> <p>تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۶/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۱۵</p>	<p>سابقه و هدف: ویروس جزیرای پیچیدگی برگ پنبه (CLCuGeV) یکی از ویروس‌های مهم آلوده کننده پنبه است که هر ساله موجب کاهش عملکرد پنبه در همه مناطق زیر کشت این محصول می‌شود. ژنوم این ویروس از نوع DNA حلقوی تک‌لا است که بصورت تک‌بخشی و با اندازه ۲/۸ کیلوباز درون پیکره‌های دوقلوی ویروس، بسته‌بندی شده است. تعداد شش ژن در ژنوم ویروس قرار گرفته است که دو عدد در رشته ویریونی (V1 و V2) و چهار عدد در رشته مکمل (C1-C4) سازمان‌دهی شده‌اند. هدف از این مطالعه، تعیین ارتباط فیلوژنتیکی بین جدایه‌های ایرانی CLCuGeV که از میزبانان و موقعیت‌های مختلف جغرافیایی کشور گزارش شده است. همچنین، با بررسی ترادف‌های نوکلئوتیدی ژنوم کامل جدایه‌های ایرانی ویروس، ساختار ژنتیکی جمعیت این ویروس تعیین گردید.</p>
<p>واژه‌های کلیدی: تنوع ژنتیکی فشار انتخاب طبیعی کشت پنبه ویروس گیاهی</p>	<p>مواد و روش‌ها: تعداد ۸ ترادف نوکلئوتیدی مربوط به جدایه‌های ایرانی CLCuGeV از پایگاه داده‌ی بانک ژن استخراج و آنالیز گردید، بدین ترتیب که ابتدا هم‌ردیف‌سازی ترادف نوکلئوتیدی انجام شد و سپس درخت فیلوژنتیکی ترسیم گردید. آنالیز چندشکلی نوکلئوتیدی در بین ترادف‌ها انجام گرفت و وقوع چندشکلی واردسازی-حذف (InDel) در بین ترادف‌ها مورد بررسی شد. مقادیر جایگزینی نامترادف (dN) و مترادف (dS) و نسبت dN/dS جهت بررسی فشار انتخاب طبیعی بر روی ترادف‌های نوکلئوتیدی محاسبه شد.</p>
	<p>یافته‌ها: ترادف نوکلئوتیدی مربوط به جدایه‌های ایرانی CLCuGeV بسته به میزبان و موقعیت جغرافیایی، در خوشه‌های مختلفی از درخت فیلوژنتیکی قرار گرفتند. آنالیز چندشکلی نوکلئوتیدی نشان داد که تعداد ۸ عدد هاپلوטיפ در بین ترادف‌ها وجود دارد و تعداد ۲۴۷ جایگاه چندشکلی با تنوع هاپلوטיפی (ژنی) و نوکلئوتیدی به ترتیب برابر با ۱ و ۰/۰۳۶۳۳ محاسبه گردید. میانگین تعداد تفاوت‌های نوکلئوتیدی نیز ۹۹/۴۲۹ شناسایی شد. چندشکلی InDel در بین ترادف‌ها وجود نداشت و نسبت dN/dS نیز ۰/۰۸۷۷۹ محاسبه شد. به علاوه، تعداد ۹ عدد رویداد نوترکیبی در موقعیت‌های نوکلئوتیدی مختلف یافت شد.</p>
	<p>نتیجه‌گیری: نتایج این پژوهش پیشنهاد می‌کند که تغییرپذیری موجود در ترادف‌های ژنوم جدایه‌های ایرانی CLCuGeV می‌تواند در فرایندهای حیاتی ویروس نظیر رونویسی، همانندسازی و در نتیجه، بیماری‌زایی تأثیر گذار باشد. وجود تنوع در این بخش از ژنوم</p>

ویروس، ممکن است در آینده منجر به افزایش دامنه میزبانی ویروس یا غلبه بر مقاومت ارقام
موجود گیاهی گردد.

استناد: قدوم پاریزی پور، محمدحامد؛ طهماسبی، امین‌اله؛ عسگری، اشکان. (۱۴۰۳). بررسی روابط فیلوژنتیکی و ساختار
ژنتیکی جدایه‌های ایرانی ویروس جزیرای پیچیدگی برگ پنبه. *مجله پژوهش‌های پنبه ایران*، ۱۲ (۱)، ۲۹-۴۰.

DOI: 10.22092/ijcr.2024.367077.1226



© نویسندگان.

ناشر: موسسه تحقیقات پنبه کشور

مقدمه

ویروس جزیرای پیچیدگی برگ پنبه (CLCuGeV) یک بگوموویروس آلوده کننده پنبه است که از نظر اقتصادی مهم است و تهدیدی جدی برای تولید پنبه در جهان است (ادریس و همکاران، ۲۰۱۴؛ شاه‌محمدی و همکاران، ۲۰۲۳). آلودگی به این ویروس باعث کاهش عملکرد در تمام مناطق آسیب دیده کشت پنبه جهان می‌شود. ارزیابی تلفات دشوار است، اما زمانی که آلودگی در اوایل فصل رشد و یا با ارقام بسیار حساس اتفاق می‌افتد، تخمین‌ها تا ۲۰ درصد متغیر است (الشیهی و همکاران، ۲۰۱۸). انتقال طبیعی CLCuGeV عمدتاً توسط سفید بالک با نام علمی *Bemisia tabaci* است که ویروس را به روشی پایا و گردشی منتقل می‌کند (مسعود و همکاران، ۲۰۱۷). گونه CLCuGeV در جنس *Begomovirus* و خانواده *Geminiviridae* طبقه‌بندی می‌شود (زرینی و همکاران، ۲۰۱۷). این ویروس یک ژنوم تک بخشی با اندازه ۲/۸ کیلوباز و یک بتاستلایت مرتبط با اندازه یک دوم واحد یا ۱/۴ کیلوباز است. جدایه‌های CLCuGeV معمولاً حداقل یک مولکول بتاستلایت و آلفاستلایت مرتبط دارند که هر کدام تقریباً نصف اندازه ژنوم ویروس کمکی است (زرینی و همکاران، ۲۰۱۷).

مشخص شده است که CLCuGeV گیاه بامیه و یا گوجه‌فرنگی را در عمان، عربستان سعودی و امارات متحده عربی آلوده می‌کند (ادریس و همکاران، ۲۰۱۴). ترادف نوکلئوتیدی ژنوم جدایه‌های CLCuGeV از عربستان سعودی با جدایه‌های گزارش شده قبلی از سودان، با ۸۸ تا ۹۳ درصد تشابه نوکلئوتیدی نشان می‌دهد این جدایه‌ها ممکن است بومی باشند یا واردسازی شده باشند. ژنوم جدایه ویروسی گزارش شده از امارات متحده عربی بالاترین تشابه نوکلئوتیدی (۹۶ تا ۹۷٪) را با جدایه‌های مصر (AF155064)، پاکستان (FR751142) و اردن (GU945265) دارد. در مقابل، جدایه امارات متحده عربی ۹۳ درصد تشابه نوکلئوتیدی با یک جدایه (HG530540) از سواحل غربی عربستان سعودی دارد

(ادریس و همکاران، ۲۰۱۴). در طی سال ۲۰۰۵، یک جدایه از CLCuGeV که دارای تشابه نوکلئوتیدی بالا با CLCuGeV از مصر بود، از پنبه دارای علائم بیماری از استان سند در جنوب پاکستان شناسایی شد، که شواهد محکمی برای واردسازی اخیر آن از شمال آفریقا ارائه کرد (طاهر و همکاران، ۲۰۱۱). در ایران نیز این ویروس توسط بنانج و همکاران (۲۰۲۱) و سالاری و همکاران (۲۰۲۳) گزارش شده است. در مطالعه‌ای که توسط بنانج و همکاران (۲۰۲۱) انجام شد، برگ‌های پایا (*Carcia papaya*) که علائم پیچ‌خوردگی شدید و کوتولگی را نشان می‌دادند مورد بررسی قرار گرفته و آلودگی بگوموویروس در آنان مشاهده شده است. همچنین، ژنوم کامل CLCuGeV به همراه مولکول‌های بتاستلایت پیچیدگی برگ پنبه (ToLCB) از این نمونه‌ها توالی‌یابی و آنالیز شده‌اند (توسط بنانج و همکاران، ۲۰۲۱). به علاوه، ژنوم CLCuGeV در سایر میزبانان گیاهی نظیر آفتابگردان، گل ختمی و بامیه نیز از استان‌های کرمان و خوزستان شناسایی و گزارش شده است (سالاری و همکاران، ۲۰۲۳). بدین ترتیب که دو مولکول آلفاستلایت متعلق به CLCuGeV (جداسازی شده از بامیه) و یک آلفاستلایت متعلق به *Gossypium darwinii* (جداسازی شده از آفتابگردان و گل ختمی) و همچنین دو مولکول ToLCB (جداسازی شده از گل ختمی) و بتاستلایت پیچیدگی برگ بامیه عمان (جداسازی شده از بامیه) گزارش شده است (سالاری و همکاران، ۲۰۲۳).

میزبان‌های جایگزین و نقش آن‌ها در اپیدمیولوژی بیماری هنوز به‌طور ضعیفی مستند شده‌اند و مطالعاتی برای شناسایی مهم‌ترین منابع ویروس‌های ایجاد کننده پیچیدگی برگ پنبه که مستقیماً بر پنبه تأثیر می‌گذارند، مورد نیاز است. دو گونه از پنبه (*G. barbadense* و *Gossypium hirsutum*) میزبان‌های اقتصادی غالب برای این ویروس هستند. دامنه میزبانی طبیعی جدایه‌های ویروس پیچیدگی برگ مورد مطالعه از مکان‌های مختلف در قاره آفریقا نسبت به مجتمع ویروس‌های ایجاد کننده پیچیدگی

سپس هم‌ردیف‌سازی ترادف‌های جدایه‌های ایرانی CLC Main با استفاده از نرم‌افزار CLC Main Workbench (کیژن، آلمان) انجام گردید. ترادف‌های نوکلئوتیدی CLC Main هم‌ردیف‌سازی شده با برنامه MEGA (دانشگاه ایالتی پنسیلوانیا، ایالات متحده)، نسخه ۶.۰۶، درخت فیلوژنتیکی ترسیم گردید.

واکاوی ترادف نوکلئوتیدی: نرخ‌های جایگزینی غیرمترادف (dN) و مترادف (dS) که عبارتند از میزان تنوع ژنی در بین ژنوتیپ‌های جدایه‌های مختلف از موجودات، با بازسازی‌های مشترک بیشینه احتمال در الگوی جایگزینی رمز Muse-Gaut و الگوی جایگزینی نوکلئوتید Felsenstein برآورد شد (نی و گوجوبوری، ۱۹۸۶). از رابطه $S = \sum_{i=1}^r S_i$ & $n = (3r - S)$ برای محاسبه dN و dS استفاده گردید که در آن n و s به ترتیب معادل جایگزینی مترادف و غیرمترادف، Si برابر است با مقدار s برای آی‌مین (ith) رمز نوکلئوتیدی و r برابر است با تعداد رمزهای مقایسه شده (نی و گوجوبوری، ۱۹۸۶). نرخ تکاملی میانگین (نسبی) با کمک الگوی جونز-تیلور-تورنتون (G+)، تخمین زده شد (جونز و همکاران، ۱۹۹۲). از توزیع گسسته گاما (G+) برای الگوسازی ناهمگونی‌های نرخ تکاملی میان موقعیت‌های نوکلئوتیدی در ژنوم استفاده شد (یانگ، ۱۹۹۴). الگوهای جایگزینی شامل نرخ جانشینی انتقالی (transition substitution) و نرخ جانشینی عرضی (transversion substitution)، فراوانی نوکلئوتیدی برای ترادف جدایه‌های CLC Main بر پایه الگوی Tamura-Nei برآورد شد (تامورا و نی، ۱۹۹۳). این الگوها نشان دهنده میزان تغییر در ترادف‌های نوکلئوتیدی هستند.

آنالیز مقایسه‌ای تکامل ترادف نوکلئوتیدی: برای شناسایی موقعیت‌های آمینو اسید ویژه تحت محدودیت‌های انتخابی، شمار تفاوت میان نرخ‌های جایگزینی dN و dS برای هر جایگاه در هم‌ردیف‌ها با برنامه MEGA، نسخه ۶.۰۶ برآورد گردید. مقدار $dN-dS > 0$ به عنوان شواهدی برای فشار مثبت انتخاب در نظر گرفته شد، در حالی که مقادیر $0 > dN-dS$ نشان دهنده فشار منفی انتخاب بود. آزمون‌های آماری

برگ پنبه در جنوب آسیا محدودتر است و تعدادی از گونه‌های موجود در خانواده گیاهی Malvaceae و حداقل چندین خانواده گیاهی دیگر را شامل می‌شود. محدوده میزبان طبیعی و آزمایشی CLC Main از آفریقا شامل *Cucumis pepo*، *Capsicum annuum*، *Gossypium spp*، *Lycopersicon*، *Hibiscus spp*، *esculentum*، پاپایا و چندین گونه از جنس‌های *Amaranthus*، *Althaea* و *Asystasia* گزارش شده است. در میان میزبان‌های وحشی گزارش شده عبارتند از: *Lavatera cretica*، *Corchorus fascicularis*، *Pavonia*، *Malvaviscus arboreus*، *Malva spp*، *Sida spp* و *hastata* (تار، ۱۹۵۱؛ نور و نور، ۱۹۶۴؛ بینک، ۱۹۷۵؛ کوکیل و فولین، ۱۹۸۳؛ فاکوئست و توونل، ۱۹۸۷؛ براون، ۱۹۹۲؛ گمبلی و همکاران، ۲۰۲۰).

گیاهان پنبه آلوده به CLC Main پیچ خوردگی برگ به سمت بالا یا پایین، همراه با تغییر رنگ برگ و موزاییک را نشان می‌دهد (ادریس، ۱۹۹۰). علاوه بر این، ضخیم شدن رگبرگ‌های فرعی و اصلی در برخی ارقام ممکن است ایجاد شود (براون، ۱۹۹۴). گیاهان پنبه‌ای آلوده در مراحل اولیه رشد، کوتاه شدن میانگره‌ها و رشد چشمگیر را نشان می‌دهند (براون، ۱۹۹۲). یک فنوتیپ علائم کمتر به نام ضخیم شدن رگبرگ کوچک، که با ایجاد برگ‌های کوچک بر روی رگبرگ‌ها و موزاییک و پیچ‌خوردگی خفیف برگ مشخص می‌شود، در نیجریه و سودان ثبت شده است (ادریس، ۱۹۹۴).

هدف از این مطالعه، تعیین ارتباط فیلوژنتیکی بین جدایه‌های ایرانی و ویروس جزیرای پیچیدگی برگ پنبه که از میزبانان و موقعیت‌های مختلف جغرافیایی کشور گزارش شده است. همچنین، با بررسی ترادف‌های نوکلئوتیدی جدایه‌های ایرانی و ویروس، ساختار ژنتیکی جمعیت این ویروس مشخص گردید.

مواد و روش‌ها

هم‌ردیف‌سازی ترادف‌ها: ترادف نوکلئوتیدی جدایه‌های CLC Main از بانک ژن استخراج شد.

می‌گیرند (شکل ۱). اولین خوشه‌ی مجزا در درخت فیلوژنتیکی شامل سه جدایه‌ی از CLCuGeV (رس شماره‌های MZ911854، MZ911857 و MZ911860) بود که با نرخ بوت استرپ نسبتاً بالایی (۸۴) در کنار هم قرار گرفتند. این جدایه‌ها به ترتیب از میزبان‌های مختلفی شامل پنیرک (*Althaea* sp.)، بامیه (*Abelmoschus esculentus*) و آفتابگردان (*Helianthus annuus*) جداسازی شده بودند. خوشه‌ی دومی که در درخت فیلوژنتیکی با بالاترین نرخ بوت استرپ (۱۰۰) تشکیل گردید عبارت بود از چهار جدایه (رس شماره‌های MN175234، MN175235، MN328257 و MN328258) که از پنیرک (*Malva sylvestris*) و پاپایا (*Carcia papaya*) جداسازی شده بودند. جدایه‌ی که از گیاه پنیرک گل‌ریز (*Malva parviflora*) گزارش شده بود (رس شماره ON209402)، با فاصله‌ی معنی‌داری نسبت به سایر جدایه‌ها در درخت فیلوژنتیکی قرار گرفت.

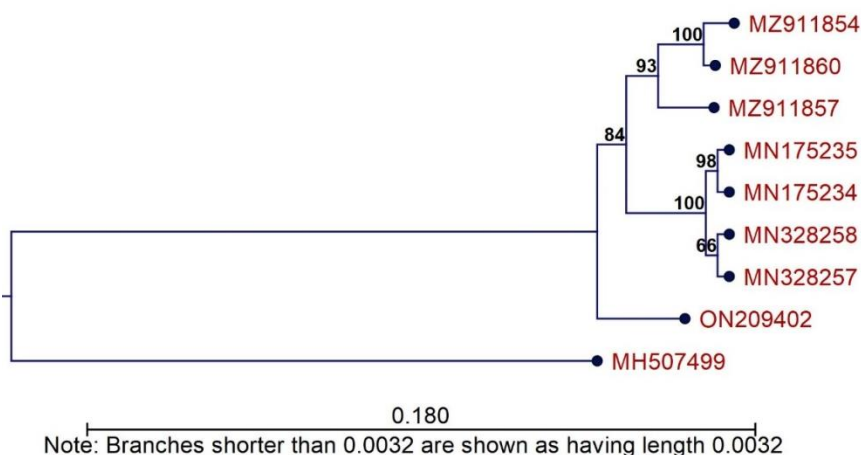
برای تمایز ژنتیکی، تخمین شماری از هاپلوتیپ‌ها و گوناگونی هاپلوتیپ با نرم افزار DnaSP 5.10.01 (دانشگاه بارسلونا، اسپانیا) انجام گرفت (روزاس و همکاران، ۲۰۰۳). رویدادهای نوترکیبی بالقوه میان ترادف‌های نوکلئوتیدی ژنوم‌های جدایه‌های ایرانی CLCuGeV با نرم افزار DnaSP 5.10.01 مورد سنجش قرار گرفت. همچنین، رخداد نوترکیبی در ترادف‌های ژنوم‌های جدایه‌های ایرانی CLCuGeV مورد بررسی قرار گرفت و موقعیت‌های بالقوه نوترکیبی شناسایی شد.

نتایج

تعداد ۸ توالی نوکلئوتیدی متعلق به ژنوم کامل جدایه‌های ایرانی CLCuGeV از بانک ژن استخراج و مورد واکاوی قرار گرفت (جدول ۱). هم‌ردیف‌سازی در ترادف نوکلئوتیدی ژنوم کامل ویروس و ترسیم درخت فیلوژنتیکی از جدایه‌های مختلف CLCuGeV نشان داد که این ترادف‌ها در خوشه‌های مختلفی قرار

جدول ۱: اطلاعات مربوط به جدایه‌های ایرانی CLCuGeV که در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفته اند.

رس‌شمار بانک ژن	جدایه	میزبان	تاریخ	منبع
MN175234	CLCuGeV-EG[IR:M2:16]	<i>Malva sylvestris</i>	2016	Bananej et al. (2021)
MN175235	CLCuGeV-EG[IR:M3:16]	<i>Malva sylvestris</i>	2020	Bananej et al. (2021)
MN328257	P4-3: Pap:10	<i>Carcia papaya</i>	2020	Bananej et al. (2021)
MN328258	P6-12: Pap:10	<i>Carcia papaya</i>	2020	Bananej et al. (2021)
ON209402	IQ:Dhi:Malva-90:15	<i>Malva parviflora</i>	2024	Shahmohammadi et al. (2023)
MZ911854	IR:Anb:1M:Mar:19	<i>Althaea</i> sp.	2022	Salari et al. (2023)
MZ911857	IR:Anb:Okra2:Okra:19	<i>Abelmoschus esculentus</i>	2022	Salari et al. (2023)
MZ911860	IR:Dez:Kho1:Sun:18	<i>Helianthus annuus</i>	2022	Salari et al. (2023)



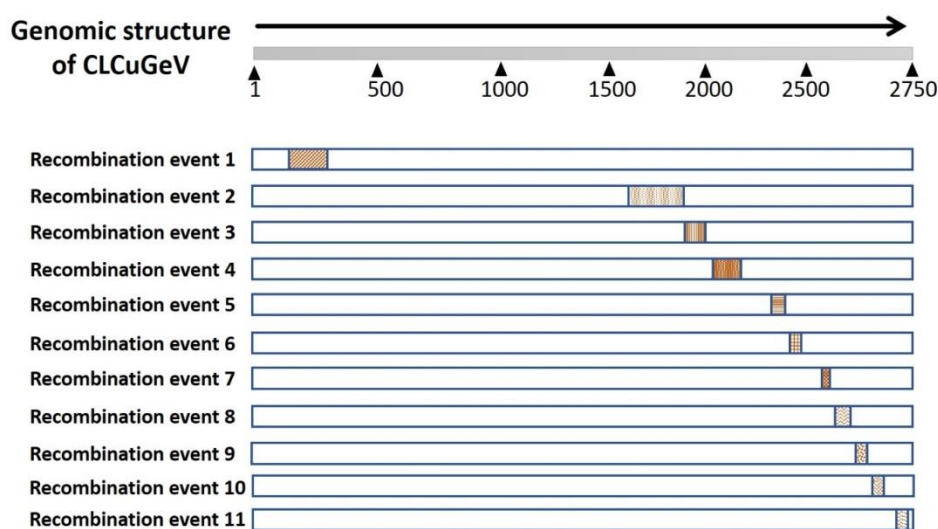
شکل ۱. درخت فیلوژنتیکی حاصل از هم‌ردیف‌سازی ترادف نوکلئوتیدی جدایه‌های مختلف CLCuGeV از ایران.

مشاهده نشد. نرخ‌های جایگزینی غیر مترادف (dN) و مترادف (dS) در مورد ترادف‌های نوکلئوتیدی ژنوم کامل از جدایه‌های مختلف ویروس هردو معنی‌دار نبودند ($p > 0.10$) و نسبت dN/dS نیز 0.8779 - محاسبه گردید. رویکرد dN-dS، انتخاب را با تفاوت بین مکان‌های نامترادف و مترادف (dN-dS) کدون‌های CLCuGeV ارزیابی کرد. مقدار dN-dS زیر صفر، نشان دهنده انتخاب منفی است؛ در حالی که مقدار dN-dS بالای صفر به عنوان انتخاب مثبت در نظر گرفته می‌شود. وقوع نوترکیبی در در بین ترادف‌های CLCuGeV بررسی گردید و نتایج نشان داد که حداقل ۱۱ رویداد نوترکیبی در موقعیت‌های نوکلئوتیدی مختلف، وجود دارد (شکل ۲). بیش از ۹۰٪ از رویدادهای نوترکیبی در موقعیت‌های نوکلئوتیدی بین ۱۵۰۰ تا ۲۷۵۰ قرار گرفته است.

اطلاعات مربوط به هر رس‌شمار در جدول ۱ آورده شده است. یک جدایه ایرانی از ویروس پیچیدگی برگ‌زرد گوجه‌فرنگی (رس شماره بانک ژن: MH507499) به عنوان گروه خارجی در نظر گرفته شده است. به منظور بررسی ساختار ژنتیکی جمعیت CLCuGeV، شاخص‌های مختلف ژنتیکی نظیر تعداد و تنوع هاپلوتیپ‌ها، جایگاه‌های چندشکلی و تنوع نوکلئوتیدی موجود در بین ترادف‌های ژنوم کامل از جدایه‌های مختلف ویروس آنالیز شد و تعداد ۸ هاپلوتیپ در بین توالی‌ها شناسایی شد (جدول ۲). سایر پارامترهای چندشکلی شامل تعداد جایگاه‌های چندشکلی، تنوع هاپلوتیپی (ژنی)، تنوع نوکلئوتیدی را نشان دادند. میانگین تعداد تفاوت‌های نوکلئوتیدی در جدول ۲ نشان داده شده است. چندشکلی واردسازی حذف (Insertion-Deletion [InDel]) در بین ترادف‌ها

جدول ۲. پارامترهای چندشکلی DNA جدایه‌های مختلف CLCuGeV که در این مطالعه با استفاده از نرم افزار DnaSP (نسخه ۶) مورد بررسی قرار گرفت.

اندازه جمعیت	تعداد مکان‌های چندشکلی	تعداد کل جهش	تعداد هاپلوتیپ	تنوع هاپلوتیپی (ژنی)	تنوع نوکلئوتیدی	میانگین تعداد تفاوت‌های نوکلئوتیدی
۸	۲۴۷	۲۶۲	۸	۱	۰.۰۲۶۳۳	۹۹/۴۲۹



شکل ۲. نمایش شماتیک از نه رویداد نوترکیبی در موقعیت‌های مختلف ترادف‌های نوکلئوتیدی ژنوم کامل جدایه‌های CLCuGeV که با استفاده از نرم افزار DnaSP (نسخه ۶) واکاوی گردید.

بحث

در تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی، نمونه‌برداری آرایه، از گروه کوچکی از گونه‌ها را برای تعیین تاریخچه تکاملی جمعیت وسیع‌تر آن انتخاب می‌کند (رزنبرگ و کومار، ۲۰۰۱). این فرآیند به نمونه‌گیری طبقه‌ای یا نمونه‌گیری مبتنی بر شاخه نیز معروف است (رزنبرگ و کومار، ۲۰۰۳). این عمل با توجه به منابع محدود برای مقایسه و تجزیه و تحلیل هر گونه در یک جمعیت هدف، انجام می‌شود (رزنبرگ و کومار، ۲۰۰۱). بر اساس گروه نماینده انتخاب شده، ساخت و دقت درختان فیلوژنتیکی متفاوت است، که بر استنتاج روابط فیلوژنتیکی حاصل، تأثیر می‌گذارد (رزنبرگ و کومار، ۲۰۰۳). در این مطالعه، به طور کلی، با هم‌مردیف‌سازی تعداد نسبتاً مساوی از موقعیت‌های نوکلئوتیدی کل، نمونه‌برداری از ژن‌های بیشتر در هر آرایه قابلیت تکرارپذیری بیشتری نسبت به نمونه‌برداری بیشتر دارد. با این حال، مجموعه داده‌های نامتعادل در پایگاه‌های داده ژنومی نظیر بانک ژن، افزایش مقایسه ژن در هر آرایه را در موجودات نمونه‌گیری غیرمعمول دشوار می‌کند (رزنبرگ و کومار، ۲۰۰۳).

ساختار ژنتیکی امکان استنباط اطلاعات در مورد یک فرد را از سایر اعضای همان جمعیت فراهم می‌کند (چاکرابوتری، ۱۹۹۳). به عبارت ساده، همه جمعیت‌ها ساختار ژنتیکی دارند، زیرا همه جمعیت‌ها را می‌توان با ژنوتیپ یا فراوانی آلی آن‌ها مشخص کرد. ساختار ژنتیکی جمعیت مربوط به جدایه‌های ایرانی CLCuGeV مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. هم‌مردیف‌سازی توالی نوکلئوتیدی ژنوم‌های کامل جدایه‌های ایرانی CLCuGeV و ترسیم درخت فیلوژنتیکی نشان داد که جدایه‌های مختلف در خوشه‌های مجزایی قرار گرفتند. این تفاوت درباره جدایه‌هایی که از میزبان‌های متفاوتی مانند پنیرک وحشی، پنیرک، پاپایا و پنیرک گل‌ریز جداسازی شده بودند، مشاهده گردید. همچنین موقعیت جغرافیایی جدایه‌ها در مواردی باعث قرار گرفتن آن‌ها در خوشه‌های جداگانه‌ای گردید که این امر در نتایج

حاصل از مطالعات مشابه نیز مشاهده شده است (بنانج و همکاران، ۲۰۲۱؛ سالاری و همکاران، ۲۰۲۳). نتایج نشان دهنده تأثیر موقعیت جغرافیایی و میزبان در تنوع ژنتیکی جدایه‌های ایرانی CLCuGeV دارد. نتایج نرخ تکامل توسط شاخص dN/dS تعیین شد، که در آن یک فشار انتخاب بسیار منفی مشاهده گردید که بیانگر تعادل در انتخاب از طریق حذف تغییرات ژنتیکی مضر و پایداری ژنوم‌های کامل جدایه‌های ایرانی CLCuGeV است. این فشار منفی انتخاب احتمالاً به دلیل محافظت ترادف‌های ژنوم ویروس است که نشان دهنده عدم فشار انتخاب طبیعی برای این ژنوم‌ها است. این امر می‌تواند به دلیل جداسازی این جدایه‌ها از یک موقعیت جغرافیایی مشترک (کشور ایران) باشد. در نتیجه، حضور کدون‌هایی با فشار منفی انتخاب نشان دهنده عدم یکنواختی فشار انتخاب در طول ترادف‌های ژنوم ویروس است. علاوه بر این، وجود رویدادهای نوترکیبی در موقعیت‌های مختلف ترادف‌های ژنوم جدایه‌های ایرانی CLCuGeV نشان دهنده تنوع نسبی درون جمعیت‌های آن است. با توجه به اهمیت اقتصادی CLCuGeV در گیاهان و خسارتی که در اثر آلودگی به آن، ایجاد می‌شود (الشیهی و همکاران، ۲۰۱۸)، تنوع آن ممکن است تهدید بزرگی برای آلوده کردن گیاهان دیگر یا غلبه بر ارقام مقاوم موجود باشد. شایان ذکر است که ۱۰ رویداد از ۱۱ رویداد نوترکیبی شناسایی شده در موقعیت‌های نوکلئوتیدی بین ۱۵۰۰ تا ۲۷۵۰ قرار گرفته است. در این بخش از ژنوم ویروس، ژن‌های مربوط به پروتئین فعال‌کننده رونویسی (TrAp) و پروتئین مرتبط با همانندسازی (Rep) قرار دارد (بنانج و همکاران، ۲۰۲۱؛ سالاری و همکاران، ۲۰۲۳). بنابراین وجود تنوع در این بخش از ژنوم می‌تواند فرایندهای حیاتی ویروس نظیر رونویسی و همانندسازی را تحت تأثیر قرار دهد. تغییرات قابل توجهی مانند جهش و نوترکیبی در ترادف‌های ژنوم جدایه‌های ایرانی CLCuGeV شناسایی شد که احتمال داده می‌شود روی نقش پروتئین‌های ویروسی

ویروس ممکن است در آینده منجر به افزایش دامنه میزبانی ویروس یا غلبه بر مقاومت ارقام موجود گیاهی گردد.

و بیماری‌زایی جدایه‌های مختلف در میزبانان مختلف اثرگذار باشند.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش پیشنهاد می‌کند که تغییرپذیری موجود در ترادف‌های ژنوم جدایه‌های ایرانی CLCuGeV می‌تواند فرایندهای حیاتی ویروس نظیر رونویسی، همانندسازی و در نتیجه، بیماری‌زایی را تحت تأثیر قرار دهد. تنوع در این بخش از ژنوم

سپاسگزاری

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به خاطر حمایت مالی در اجرای پژوهش حاضر سپاسگزاری می‌شود.

منابع

1. Al-Shihi, A. A., Al-Sadi, A. M., Deadman, M., Briddon, R. W., and Shahid, M. S. 2018. Identification of a distinct strain of *Cotton leaf curl Gezira virus* infecting tomato in Oman. *Journal of Phytopathology*, 166(3): 199-205.
2. Bananej, K., Shafiq, M., and Shahid, M. S. 2021. Association of cotton leaf curl Gezira virus with tomato leaf curl betasatellite infecting *Carica papaya* in Iran. *Australasian Plant Disease Notes*, 16: 1-4.
3. Bink, F. A. 1975. Leaf curl and mosaic diseases of cotton in central Africa. *Cotton Growing Review*, 52(3): 233-241.
4. Brown, J. K. 1992. Virus diseases. In: *Cotton diseases.*, [ed. by Hillocks, R.J.]. Wallingford, UK: CAB International. 275-329.
5. Brown, J. K. 1994. Current status of *Bemisia tabaci* as a plant pest and virus vector in agroecosystems worldwide. *FAO Plant Protection Bulletin*, 42(1/2): 3-32.
6. Cauquil, J., and Follin, J. C. 1983. Presumed virus and mycoplasma-like organism diseases in subsaharan Africa and in the rest of the world. (Les maladies du cotonnier attribuees a des virus ou a des mycoplasmes en Afrique au Sud du Sahara et dans le reste du Monde.) *Coton et Fibres Tropicales*, 38(4): 293-317.
7. Chakraborty, R. 1993. Analysis of genetic structure of populations: meaning, methods, and implications. *Human population genetics: A centennial tribute to JBS Haldane*, 189-206.
8. Fauquet, C., and Thouvernel, J. C. 1987. *Plant Viral Disease in the Ivory Coast*. Paris: Editions de L'ORSTOM, Institut Francais de Recherche Scientifique pour le Developpement en Cooperation.
9. Gambley, C., Cremer, J., Campbell, P., Roach, R., and Abdel-Salam, A. M. 2020. New host records for *Cotton leaf curl Gezira virus*: capsicum and melon in Egypt. *Australasian Plant Disease Notes*, 15(3).
10. Idris, A. M. 1990. *Cotton leaf curl virus* disease in the Sudan. In: *Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen, Rijksuniversiteit Gent*, 552a: 263-267.
11. Idris, A., Al-Saleh, M. A. and Brown, J. K. 2014. Deep sequencing reveals Cotton leaf curl Gezira helper virus and sub-viral DNAs in weed, ornamental, and cultivated crops throughout Arabia. *Phytopathology*, 104(11): 53-53.
12. Jones, D. T., Taylor, W. R. and Thornton, J. M. 1992. The rapid generation of mutation data matrices from protein sequences. *Bioinformatics*, 8(3): 275-282.
13. Masood, M., Amin, I., Hassan, I., Mansoor, S., Brown, J. K. and Briddon, R. W. 2017. Diversity and distribution of cryptic species of the *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) complex in Pakistan. *Journal of Economic Entomology*, 110(6): 2295-2300.
14. Nei, M., and Gojobori, T. 1986. Simple methods for estimating the numbers of synonymous and nonsynonymous nucleotide substitutions. *Molecular Biology and Evolution*, 3(5): 418-426.

15. Nour, M. A., Nour, Jane J., 1964. Identification, transmission, and host range of leaf curl viruses infecting cotton in the Sudan. *Empire Cotton Growing Review*, 41(1): 27-37.
16. Rosenberg M .S., and Kumar S. 2001 .Incomplete taxon sampling is not a problem for phylogenetic inference. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(19):10751-6.
17. Rosenberg, M. S., and Kumar, S. 2003. Taxon sampling, bioinformatics, and phylogenomics. *Systematic Biology*, 52(1): 119.
18. Rozas, J., Sánchez-DelBarrio, J. C., Messeguer, X., and Rozas, R. 2003. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics*, 19: 2496-2497.
19. Salari, K., Heydarnejad, J., Massumi, H., Hasanvand, V., and Varsani, A. 2023. Incidence of cotton leaf curl Gezira virus and the associated alphasatellites and betasatellites in crops and ornamental plants in southern Iran. *Tropical Plant Pathology*, 48(1): 62-72.
20. Shahmohammadi, N., Dizadji, A., Al-Waeli, M., and Kvarnheden, A. 2023. First report of cotton leaf curl Gezira virus infecting *Malva parviflora* and in Iraq. *Australasian Plant Disease Notes*, 18(1): 13.
21. Tahir, M. N., Amin, I, Briddon, R. W., and Mansoor, S. 2011. The merging of two dynasties-identification of an African cotton leaf curl disease-associated begomovirus with cotton in Pakistan. *PLoS ONE*, 6(5): e20366.
22. Tamura, K., and Nei, M. 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Journal of Molecular Evolution*, 10(3): 512-526.
23. Tarr, S. A. J., 1951. Leaf curl disease of cotton. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, 55 p.
24. Yang, Z. 1994. Maximum likelihood phylogenetic estimation from DNA sequences with variable rates over sites: approximate methods. *Journal of Molecular Evolution*, 39: 306-314.
25. Zerbini, F. M., Briddon, R. W., Idris, A., Martin, D. P., Moriones, E., Navas-Castillo, J., ... and ICTV Report Consortium. 2017. ICTV virus taxonomy profile: *Geminiviridae*. *Journal of General Virology*, 98(2): 131-133.

