مجله ایمنی زیستی
دوره ۱۳، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹
ISSN 2716-9804 الکترونیکی، ISSN 2717-0632 چاپی

تاریخچه شناسایی مولکولی *پوتی‌ویروس‌ها*

سعیده دهقانپور فراشاه[۱]، مهرداد صالح‌زاده[۲*]، احمد اشرفی[۳]

۱- استادیار گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران
۲- دانشجوی دکترای بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه شیراز، ایران
۳- کارشناسی ارشد، بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه آزاد واحد ملکان، ایران
mehrdadsalehzadeh@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۹/۱۱/۲۵، تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۲/۱۷
صفحه ۱۰۸-۹۳

چکیده

پوتی‌ویروس‌ها یکی از بزرگترین خانواده ویروس‌های گیاهی (*Potyviridae*) با بیشترین اهمیت اقتصادی هستند. *پوتی‌ویروس‌ها* دارای پیکره‌ی رشته‌ای، خمش‌پذیر و ساختار ژنومی آر.ان.ای تک رشته‌ای با قطبیت مثبت هستند و ۱۸۳ گونه دارند. امروزه از سنجش‌های بیولوژیکی، سرولوژیکی و مولکولی برای غربالگری *پوتی‌ویروس‌ها* استفاده می‌شود. این مقاله کاربرد روش‌های مختلف مربوط به شناسایی *پوتی‌ویروس‌هایی* که در ایران و جهان باعث ایجاد آلودگی طیف وسیعی از گیاهان می‌شوند، مرور می‌شود. استفاده از آغازگرها به‌خصوص آغازگرهای دژنره نه تنها ردیابی سریع *پوتی‌ویروس‌ها* را تسهیل کرده بلکه توالی‌یابی قسمتی از ژنوم و تاکسونومی این ویروس‌ها را نیز امکان‌پذیر ساخته است. امروزه سیستم TaqMan توسعه یافته و می‌تواند تعداد نسخه‌های اولیه آر.ان.ای *پوتی‌ویروس‌ها* را در گیاهان آلوده نسبت به گیاهان سالم نشان دهد. فناوری ترانسکریپتوم واکنش‌های پیچیده بین پروتئین‌های چندمنظوره‌ی *پوتی‌ویروس‌ها* و ارتباط آنها با پروتئین‌های میزبان را نشان می‌دهد. این روش در تشخیص پاسخ‌های مولکولی و فیزیولوژیکی گیاه آلوده به *پوتی‌ویروس‌ها* و همچنین تکامل و فیلوژنی آنها نقش دارد. فناوری کریسپر یکی از روش‌های موثر و جدید ویرایش هدفمند ژنوم است که در جهت ارتقای کیفیت و عملکرد گیاهان و ایجاد صفات جدید در آنها استفاده می‌شود. از این روش می‌توان برای تولید گیاهان مقاوم به *پوتی‌ویروس‌ها* استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: آغازگر دژنره، ترانسکریپتوم، کریسپر، *Potyviridae*، TaqMan.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-03]
[DOR: 20.1001.1.27170632.1399.13.2.7.9]

مقدمه

*پوتی‌ویروس*ها، ویروس‌هایی با پیکره‌ی رشته‌ای خمش‌پذیر از خانواده *Potyviridae* و ساختار ژنومی آر.ان.ای تک‌رشته‌ای با قطبیت مثبت (+ssRNA) هستند. *پوتی‌ویروس*ها از مهمترین عوامل خسارت‌زای گیاهان از طریق کاهش شدید عملکرد محصولات در نقاط مختلف دنیا محسوب می‌شوند (۳-۱).

بر اساس آخرین گزارش کمیته بین‌المللی رده‌بندی ویروس‌ها (ICTV) جنس *پوتی‌ویروس* شامل ۱۸۳ گونه است (https://talk.ictvonline.org). هر ساله گونه‌های جدیدی به این جنس اضافه می‌شود (۴).

در خانواده *پوتی‌ویریده* معیار تمایز گونه‌ی جدید، شباهت نوکلئوتیدی کمتر از ۸۸ درصد در کل ژنوم است (۵).

تمامی این ویروس‌ها شباهت‌هایی از لحاظ پیکره، انتقال توسط ناقل و ساختار ژنومی دارند. رابطه‌ی سرلوژیکی بین اعضای این جنس معیار مهمی برای طبقه‌بندی این ویروس‌ها نیست ولی می تواند به‌عنوان شاهدی برای تایید رابطه‌ی آنها استفاده شود. تشابه توالی اسیدآمینه‌ای پروتئین پوششی به تمایز *پوتی‌ویروس*ها و استرین‌های آنها کمک می‌کند (۵، ۶).

*پوتی‌ویروس*ها از نظر ساختار ژنومی و استراتژی بیان ژن، مشابه جنس‌های ویروسی *Comovirus* و *Nepovirus* هستند. گونه‌های ویروسی این جنس‌ها یک ژن حفاظت‌شده (*RdRP*) به‌منظور رمزکردن پروتئین‌های غیرساختاری درگیر در تکثیر آر.ان.ای دارند. به‌همین دلیل می‌توان این سه جنس ویروسی را در یک بالا گروه به نام *Picorna*-like قرار داد. ژنوم *پوتی‌ویروس* تقریباً ۱۰۰۰۰ باز طول و در انتهای '۵ رشته، پروتئین متصل به رشته (VPg) و یک دنباله Poly-A در انتهای منطقه‌ی '۳ دارد (۱۱-۸).

ژنوم ssRNA مثبت به‌عنوان mRNA عمل می‌کند و نواحی ترجمه‌نشونده UTR'۵ که هیچ ژنی را رمز نمی‌کند، به‌عنوان افزایش‌دهنده‌ی ترجمه محسوب می‌شود (۱۲).

مکانیسم ترجمه به‌صورت تولید پلی‌پروتئین است. ژنوم آر.ان.ای دارای یک ORF است که پلی‌پروتئینی در حدود ۳۵۰

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-03]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1399.13.2.7.9]

کیلو دالتون را رمز می‌کند. این پلی‌پروتئین با سه پروتئیناز که توسط خود ویروس رمز می‌شود، به محصولات نهایی تبدیل می‌شود.

دو پروتئیناز که به‌صورت خودشکن (اتوپروتئولیتیک) عمل می‌کنند به نام‌های *P1* و *HC-Pro* هستند و یکی از این پروتئینازها *NIa-Pro* نام دارد که به‌عنوان اتوکاتالیتیک سیس یا ترانس فعالیت می‌کند. با کمک این پروتئینازها پلی‌پروتئین به هفت پروتئین کوچک با نام‌های P1، جزء کمکی (HC)، P3، اجسام درون سیتوپلاسمی سیلندری (CI: cylindrical inclusion)، اجسام هسته‌ای a (NIa)، اجسام هسته‌ای b(Nib) و پروتئین پوششی (CP) شکسته می‌شوند (۱۳).

همچنین دو پروتئین فرضی کوچک با نام‌های 6k1 و 6k2 و یک ORF کوچک در سیسترون P3 به نام Pipo نیز معرفی شده‌اند که این ORF حفاظت‌شده است و به‌عنوان یک نشانگر بیوانفورماتیک قوی در خانواده *پوتی‌ویریده* محسوب می‌شود (۱۴).

پژوهش‌های انجام‌شده در دنیا

روش‌های مبتنی‌بر آغازگرهای دژنره (degenerate primer)

از سال ۱۹۹۰ تلاش برای طراحی آغازگرهای دژنره جهت ردیابی همه‌ی *پوتی‌ویروس*ها انجام شد (۱۴).

آغازگر دژنره که برای یک جنس طراحی می‌شود از قدرت ردیابی بالایی برخوردار است. این آغازگرها امکان ردیابی دامنه‌ی وسیعی از گونه‌ها و حتی ردیابی سریع و آسان گونه‌های جدید را فراهم می‌سازند. طراحی آغازگرها با توجه به توالی‌های موجود در زمان خود صورت می‌پذیرد و به همین دلیل با گذشت زمان کارایی آغازگرهای قدیمی برای ردیابی ژنوتیپ‌های جدید کاهش می‌یابد. بیشتر مناطق حفاظت‌شده ژنوم *پوتی‌ویروس*ها در منطقه رمزکننده‌ی اندامک‌های ویژه درون سلولی Nib (nuclear inclusion b) آنها قرار دارد (۴). برای اولین‌بار نیکولاس و لالیبرت (۱۹۹۱)، آغازگر دژنره‌شده را برای مناطق حفاظت‌شده‌ی CI و Nib طراحی کردند. طراحی این آغازگرها براساس پنج توالی موجود از منطقه ژنومی

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-03]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1399.13.2.7.9]

*پوتی‌ویروس*ها انجام شد (۱۵). لانگولد و همکاران (۱۹۹۱) آغازگر دژنره الیگونوکلئوتیدی مبتنی بر منطقه حفاظت‌شده‌ی Nib و پوشش پروتئینی (coat protein) را طراحی کردند و نشان دادند که می‌توان گیاهان با ریشه پیازی آلوده به *پوتی‌ویروس*ها را تشخیص داد. از آنجا که سایر ویروس‌ها مثل *کارلا ویروس*ها و *پوتکس‌ویروس*ها با این آغازگرها ردیابی نمی‌شوند این موضوع نشان‌دهنده‌ی عملکرد اختصاصی این آغازگرها است. با کمک آغازگرهای دژنره مبتنی‌بر منطقه پوشش پروتئینی و مجاور انتهای PolyA که به‌ترتیب توالی اسیدآمینه‌ی WCIEN و QKMAAA را رمز می‌کنند، موفق به ردیابی ویروس موزاییک دشین (dasheen mosaic virus) شدند. این منطقه برای توصیف استرین‌های *پوتی‌ویروس*ها نیز مناسب ارزیابی شد (۱۷-۱۶). موتیف WCIEN که در منطقه رمزکننده‌ی پروتئین پوششی قرار دارد و توسط آغازگر CN48 شناسایی می‌شود در مقایسه با دیگر آغازگرها، در مرتبه ۱۲ قرار گرفت (۴). کولینت و همکاران (۱۹۹۳) آغازگرهایی را با نام Pot2 و Pot1 که به‌ترتیب مطابق با منطقه‌ی Nib و پوشش پروتئینی طراحی شده بودند، برای ردیابی *پوتی‌ویروس*های سیب‌زمینی شیرین به کار بردند. اندازه‌ی قطعات بدست آمده ۱۳۵۰ جفت‌باز بود و در برخی نمونه‌ها دو قطعه‌ی دیگر ۱۳۰۰ و ۱۴۵۰ جفت‌باز نیز مشاهده شد که نشان‌دهنده‌ی آلودگی مخلوط در این نمونه ها بود. قطعات با کمک آنزیم‌های برشی بررسی و جدایه‌ها در دو گروه قرار داده شدند. در تحقیق دیگر جدایه‌های چینی *پوتی‌ویروس* از سیب‌زمینی شیرین مبتلا به ابلقی با استفاده از چهار جفت آغازگر دژنره مورد ردیابی قرار گرفتند (۱۸). پیرسون و همکاران (۱۹۹۳) با استفاده از آغازگرهای دژنره طراحی‌شده در سال ۱۹۹۱ مبتنی بر منطقه‌ی پروتئین پوششی (U335/D335)، موفق به ردیابی *پوتی‌ویروس* از درخت‌های نخل در ایالت کوئین ایسلند استرالیا شدند. این روش همچنین برای ردیابی ویروس موزاییک بذرزاد نخود نیز مناسب ارزیابی شد (۱۹). گیبس و مکنزی (۱۹۹۷) با کمک آغازگرهای دژنره طراحی شده براساس

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-03]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1399.13.2.7.9]

منطقه Nib (potyvirid2) و Poly-A (potyvirid1) توانستند *پوتی‌ویروس*ها را ردیابی کنند. باندهای مورد انتظار ۱۶۰۰-۲۱۰۰ جفت‌باز بودند ولی باندهای ۶۰۰-۱۰۰۰ جفت‌بازی هم در نتایج مشاهده شد. آغازگر طراحی‌شده با نام potyvirid2 مطابق با توالی اسیدآمینه‌ای GNNSGQ است که در منطقه‌ی Nib قرار دارد. این قسمت از منطقه‌ی Nib، از لحاظ کارایی در رتبه‌ی هفت قرار گرفت و ارزش N برای این منطقه حدود ۸۵ درصد برآورد شد (۲۰). شوکلا و همکاران (۱۹۹۴) بیان داشتند که منطقه‌ی شناسایی شده توسط این آغازگرها نسبت به دیگر قسمت‌های ژن از تغییرات زیادی برخوردار است و برای تشخیص استرین‌های گونه‌های *پوتی‌ویروس*ها کارایی بالایی دارد (۲۱).

در تحقیق دیگر، با استفاده از آغازگرهای دژنره‌ی طراحی‌شده از سال ۱۹۹۴ تا ۱۹۹۸ و با روش RT-PCR توانستند *پوتی‌ویروس*های سیب‌زمینی را در برگ، غده و شته‌ها ردیابی کنند. در سال ۱۹۹۸ در مزارع کشت نیشکر پاکستان، با کمک جفت آغازگر عمومی Pot4/RCF1، ویروس جدید موزاییک خطی نیشکر ردیابی و رابطه‌ی سرولوژیکی آن با دیگر گونه‌های *پوتی‌ویروس*، مورد مقایسه قرار گرفت. با اینکه این گونه ویروسی از نظر رابطه‌ی سرولوژیکی از دیگر گونه‌ها مجزا بود ولی با ردیابی مولکولی در میان اعضای این جنس قرار گرفت. آغازگر عمومی با نام sprimer بر اساس توالی حفاظت‌شده GNNSGQ منطقه Nib اعضای خانواده *پوتی‌ویریده*، طراحی و ۲۱ گونه توسط این آغازگر همراه با یک آغازگر مبتنی‌بر انتهای ۳' ماقبل Poly A شناسایی شد (۲۲، ۲۳). با بررسی توالی‌های موجود در بانک ژن می‌توان وجود توالی منطقه‌ی اسیدآمینه‌ی GNNSGQ را در منطقه‌ی Nib همه‌ی این توالی‌ها تایید کرد (۲۴).

بیشتر محققین برای مقایسه و تمایز جدایه‌ها از کل ناحیه CP-3'UTR استفاده کردند. اگرچه آدامس و همکاران (۲۰۰۵) ژن CI را برای مقایسه و تمایز گونه‌ها و سویه‌های *پوتی‌ویروس*ها پیشنهاد کردند ولی هنوز در بسیاری از منابع، استفاده از ناحیه‌ی CP-3UTR به دلیل تفسیر راحت‌تر نتایج متداول است (۲۵).

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-03]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1399.13.2.7.9]

در تحقیقی دیگر، با استفاده از سه جفت آغازگر دژنره منطبق بر UTR'3، موفق به ردیابی شش گونه از جنس *پوتی‌ویروس* شدند. سپس با کمک توالی‌های حاصل از این گونه‌ها پروب‌های اختصاصی برای *پوتی‌ویروس*ها طراحی و از روش هیبرید لکه نقطه‌ای معکوس استفاده شد. این روش برای شناسایی گونه‌های زیادی از این جنس کاربرد دارد و از آن می‌توان در ردیابی آلودگی‌های مخلوط نیز استفاده کرد (۲۶).

ها و همکاران (۲۰۰۸) با طراحی دو جفت آغازگر منطبق بر منطقه‌ی HC-Pro و CI که اختصاصی جنس *پوتی‌ویروس* هستند موفق به ردیابی گونه‌های زیادی از این جنس ویروسی شدند (۲۷). طی یک تحقیق با استفاده از جفت آغازگر sprimer/M4، ۱۱ گونه *پوتی‌ویروس* ردیابی شد. قطعات بدست آمده از ژل استخراج و با سه آغازگر دیگر منطبق بر منطقه‌ی پوشش پروتئینی و با روش semi-nested_PCR ردیابی و قطعات حاصل توالی‌یابی شدند و با این روش به واسطه‌ی سه آغازگر مورد استفاده می‌توان کل منطقه‌ی پوشش پروتئینی را ردیابی کرد (۲۸). برای بررسی شکسته‌شدن مقاومت گیاه فلفل شیرین در مقابل ویروس موزاییک زرد فلفل در برزیل آغازگرهای عمومی potyvirid2 و CN48 جهت ردیابی ویروس مورد استفاده قرار گرفت. نتیجه این بررسی نشان داد که جدایه‌ای از این ویروس موجب شکسته‌شدن مقاومت گیاه به این ویروس شده است. این محققین با کمک آغازگرهای دژنره‌ی اختصاصی *پوتی‌ویروس*ها موفق به ردیابی گونه‌ی ویروسی از گیاه داودی شدند. این گونه‌ی ویروسی، حدود ۹۳ درصد با ویروس‌های ابلقی رگبرگ نخود و ویروس رگبرگ نواری فلفل مشابهت داشت (۲۹). آغازگرهای عمومی با نام‌های Nib2F و Nib3R بر اساس مناطق حفاظت‌شده‌ی ژنوم *پوتی‌ویروس*ها و یا برنامه‌ی NCSF، بر اساس توالی‌های موجود در سال ۲۰۰۵ طراحی شدند. ژانگ و همکاران (۲۰۰۸) بیان کردند که از لحاظ رتبه‌بندی این آغازگرها به ترتیب در مکان‌های اول و نهم قرار می‌گیرند. طی این تحقیق از تمام ۴۰ جدایه‌ی مورد آزمایش، قطعه‌ی ۳۵۰ جفت بازی مورد نظر بدست آمد در حالیکه

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-03]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1399.13.2.7.9]

آغازگر CN48 از ۳۲ ایزوله‌ی مورد آزمایش تنها ۲۱ گونه را ردیابی کرد و آغازگر potyvirid2 از این ۲۱ ایزوله، ۱۵ نمونه را ردیابی کرد. در این پژوهش ۱۲ گونه *پوتی‌ویروس* ناشناخته و سه گونه‌ی متفاوت ردیابی شدند. از مزیت‌های این آغازگرها می‌توان به تفسیر راحت نتایج به دلیل قطعه‌ی اختصاصی بدست آمده از واکنش PCR و تغییرات کم در اندازه‌ی قطعه موردنظر، اشاره کرد (۳۰).

.مطالعه‌ای که در مورد گیاه همیشه سبز *Catharanthus roseus* L. متعلق به خانواده‌ی *Apocynaceae* بر اساس توالی ۷۶۸ نوکلئوتیدی مربوط به ژن رمزکننده‌ی پوشش پروتئینی انجام شد. سپس با سایر توالی‌های مربوط به جنس *پوتی‌ویروس* در این ناحیه مقایسه و گونه‌ی جدیدی از *پوتی‌ویروس*ها که در این گیاه موزاییک و بدشکلی شاخسار را ایجاد می‌کرد، شناسایی شد. با استفاده از آغازگرهای ناحیه‌ی پوشش پروتئینی مشخص شد بیشترین تفاوت این گونه با سایر گونه‌های جنس *پوتی‌ویروس* در ناحیه‌ی 3' UTR (حدود ۲۶۸ نوکلئوتید آخر) است (۳۱).

کاربرد Real time PCR در شناسایی پوتی ویروس‌ها

امروزه سنجش‌های بیولوژیکی یا سرولوژیکی از طریق استخراج آر.ان.ای و انجام واکنش PCR به هزینه غربالگری *پوتی‌ویروس*ها می‌افزاید. به‌تازگی، روش‌های ارزانتر، مطمئن و سریعتر برای غربالگری *پوتی‌ویروس*ها ایجاد شده است که از جمله‌ی آنها می‌توان به RT-PCR یا PCR در زمان واقعی با نشانگرهایی از جمله TaqMan اشاره کرد. اگرچه سنجش‌های جدید اغلب برای کاهش زمان و سنجش انواع ویروس‌ها با هزینه‌ی کم طراحی شده‌اند، اما هنوز به مرحله استخراج وقت‌گیر و پرزحمت آر.ان.ای نیاز دارند. در یک مطالعه سه *پوتی‌ویروس* رایج آلوده‌کننده‌ی سیب‌زمینی شامل ویروس A، M و Y، به‌طور همزمان از آر.ان.ای کل عصاره‌ی غده‌ها و برگ سیب‌زمینی از طریق PCR در زمان واقعی تشخیص داده شدند. فاکتورهای حیاتی برای تشخیص این ویروس‌ها در عصاره‌ی غده‌های سیب‌زمینی شامل رقت بهینه ویروس و مهار RNAaseها و بهینه‌سازی مراحل رونویسی

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-03]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1399.13.2.7.9]

معکوس است و در نتیجه در وقت و هزینه صرفه‌جویی می‌شود. سیستم TaqMan امروزه توسعه یافته و می‌تواند تعداد نسخه‌های اولیه آر.ان.ای *پوتی‌ویروس*ها را نسبت به گیاهان سالم بیان کند (۳۴-۳۲).

فناوری ترانسکریپتوم در شناسایی و ارتباط بین پروتئین‌های *پوتی‌ویروس*ها

بررسی چرخه‌های آلودگی *پوتی‌ویروس*ها و فعل و انفعالات میزبان-ویروس برای توسعه استراتژی‌های ضدویروسی و ایجاد ارقام مقاوم ضروری است. فناوری ترانسکریپتوم فعل و انفعالات پیچیده بین پروتئین‌های چند منظوره‌ی *پوتی‌ویروس*ها و ارتباط آنها با پروتئین‌های میزبان را به‌صورت شبکه‌ی پیچیده‌ی پروتئینی نشان داده و علاوه‌بر آن پاسخ‌های مولکولی و فیزیولوژیکی گیاه آلوده به *پوتی‌ویروس*ها و همچنین تکامل و فیلوژنی آنها را نشان می‌دهد. بررسی شن و همکاران (۲۰۲۰) نشان می‌دهد که چگونه آر.ان.ای پلی‌مراز وابسته به آر.ان.اِ، به‌عنوان یک پروتئین چندمنظوره، می‌تواند از عوامل میزبانی برای پیشروی ویروس و سرکوب دفاع گیاهی استفاده کند (۳۵). استفاده از فناوری ترانسکریپتوم نشان داد که پروتئین‌های VPg و HCpro و پروتئین‌های eIF4E و eIF (iso) 4E میزبان یک شبکه تعامل ایجاد می‌کنند که احتمالاً به سرکوب RNAi کمک می‌کند (۳۶).

مطالعه‌ی *پوتی‌ویروس*ها با استفاده از روش‌های رونویسی با توان تجزیه و تحلیل بالا روابط آنتاگونیستی و هم‌افزایی (سینرژیست) بین *پوتی‌ویروس*ها در آلودگی‌های مخلوط را مشخص کرد. این مطالعات ارتباط بین آلودگی ویروسی و تنظیم ژن‌های درگیر در ایمنی گیاه و نقش آر.ان.ای‌های کوچک در این فرآیندها را نشان داد (۳۷). سرانجام، توالی‌یابی نسل جدید با قدرت تجزیه و تحلیل بالا در مورد فیلوژنی *پوتی‌ویروس*ها انجام شد. نتایج پژوهش‌های مختلف مشخص کرد که چگونه *پوتی‌ویروس*ها در مدت زمان نسبتاً کوتاهی دچار تغییرات دامنه میزبان زیادی شده‌اند و گیاهان زراعی به‌طور قابل‌توجهی به تنوع آنها کمک کرده‌اند. هرواس و همکاران (۲۰۲۰) بررسی کاملی از تکامل *پوتی‌ویروس*ها را آغاز کردند که از یک

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-03]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1399.13.2.7.9]

منظر تاریخی شروع و به روابط طبقه‌بندی بین *پوتی‌ویروس‌ها* و توزیع زمانی و جغرافیایی آنها می‌رسد (۳۸).

کاربرد فناوری کریسپر (CRISPR) درکنترل *پوتی‌ویروس‌ها*

سیستم تناوب‌های کوتاه پالیندروم فاصله دار منظم خوشه‌ای (CRISPR/Cas9) یکی از روش‌های موثر و جدید ویرایش هدفمند ژنوم است که در جهت ارتقای کیفیت و عملکرد گیاهان و ایجاد صفات جدید در آنها استفاده می‌شود. عملکرد CRISPR/Cas9 به‌طور گسترده در ویرایش ژنوم، خاموشی ژن، کنترل فرآیند رونویسی با اختصاصیت بالا و کاهش اثرات توالی‌های غیرهدف توسط برش‌های دورشته‌ای (DSBs) در دی.ان.ای ژنومی و تغییر در توالی نوکلئوتیدی ژن هدف در بسیاری از سیستم‌های گیاهی و جانوری توسعه یافته است. جنبه‌های وسیع سیستم CRISPR/Cas9 در ویرایش هدفمند ژنوم جهت توسعه گیاهان ویرایش ژنتیک‌شده، دستیابی به تطابق محیطی و کشاورزی بیوانرژیک و ملاحظات زیست‌محیطی کاربرد دارد. توسعه گیاهان زراعی ویرایش ژنتیکی‌شده (GE) به‌طور کامل مشابه با گیاهان اصلاحی معمول نشان‌دهنده کارآمدی و پایداری این محصولات در شرایط مختلف اقلیمی است که از نظر پذیرش جامعه، ملاحظات زیست‌محیطی و سلامت انسان در اولویت مصرف هستند (۴۱-۳۹). دست‌کاری ژنی بیش از ۹۰ درصد جوانه‌های پاپایا در جزایر هاوایی برای مقاوم‌شدن به *پوتی‌ویروس‌ها* با استفاده از این فناوری خاص انجام شده است. پژوهش‌ها برای کاربرد این فناوری در تولید نوع جدیدی از آلوی مقاوم به *پوتی‌ویروس* عامل شارکا (plum pox) نیز انجام شده است (۴۲).

پژوهش‌های انجام‌یافته در ایران

در یک تحقیق رابطه‌ی مولکولی دو سویه‌ی عمده ویروس موزاییک نیشکر با یکدیگر و با سایر سویه‌های دنیا مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور، پس از تشخیص سرولوژیکی سویه‌ها، آزمون RT-PCR با چهار جفت آغازگر عمومی منطبق بر UTR'3 جنس *پوتی‌ویروس*، قطعه‌ی مورد نظر را تکثیر داد. با بررسی رابطه‌ی فیلوژنتیکی می‌توان به این نتیجه

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-03]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1399.13.2.7.9]

رسید که احتمالاً این دو سویه منشا خارجی داشته و از طریق قلمه وارد ایران شده‌اند (۴۳). برای تعیین هویت ویروس مولد موزاییک بادمجان در استان بوشهر آزمون سرولوژیکی با چندین آنتی‌بادی انجام شد ولی نتیجه‌ای حاصل نشد. با آزمون RT-PCR و با آغازگر عمومی تیره *پوتی‌ویریده* قطعه‌ی موردنظر ردیابی شد. بررسی شباهت قطعه‌ی ترادف‌یابی‌شده با ترادف‌های موجود در بانک ژن مشابهت ۹۴ درصدی با ژن پروتئین پوششی ویروس Y سیب‌زمینی را نشان داد (۴۴).

در سال ۱۳۸۱ در منطقه گلپایگان روی گیاه *Phalaris arundinacae* L. علائم موزاییک مشاهده شد. مطالعات الکترون میکروسکوپی حاکی از وجود پیکره‌های رشته‌ای مرتبط با علائم بود. برای بررسی‌های بیشتر آزمون RT-PCR با جفت آغازگر Oligo1n/Oligo2n انجام شد (۴۵). با بررسی ویروس‌های گندم از منطقه‌ی اقلید فارس و با استفاده از جفت آغازگر عمومی خانواده‌ی *پوتی‌ویریده*، CN48/OligodT، ویروس جدیدی ردیابی شد که از نظر توالی نوکلئوتیدی متفاوت از ویروس‌های موزاییک رگه‌ای گندم و موزاییک اقلید گندم گزارش‌شده از این منطقه بود. در آنالیز فیلوژنتیکی آر.ان.ای این ویروس با اعضای تیره‌ی *پوتی‌ویریده* با ویروس موزاییک رگه‌ای نیشکر، یک شاخه جداگانه را تشکیل داد (۴۶). طی یک تحقیق به‌منظور تعیین پراکنش ویروس موزاییک زرد لوبیا از مزارع نخودفرنگی استان تهران در سال‌های ۱۳۸۴-۱۳۸۲ نمونه‌برداری انجام و نمونه‌های مشکوک با آزمون‌های الایزا مورد بررسی قرار گرفتند. در این تحقیق به‌منظور بررسی دقیق‌تر از روش RT-PCR با آغازگرهای عمومی *پوتی‌ویروس*ها استفاده شد که در مجموع از ۱۲۷۶ نمونه، در ۲۵۹ مورد ردیابی این ویروس انجام شد (۴۷).

دو جدایه ایرانی ویروس موزاییک نیشکر به نام‌های KhzL166 و KhQ86 از مزارع نیشکر خوزستان جمع‌آوری و با استفاده از آغازگرهای دژنره *پوتی‌ویروس*ها با اختصاصیت ناحیه‌ی ۳' ژنوم آنها به روش RT-PCR تکثیر و همسانه‌سازی شد. قطعات پس از تعیین ترادف با هم الحاق داده شدند و ترادف قطعه‌ای به طول ۱۸۱۵

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-03]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1399.13.2.7.9]

نوکلئوتید بدست آمد که شامل قسمتی از ژن *Nib*، کل CP و UTR'3 بود (۴۸). ویروس موزاییک ایرانی قیاق با استفاده از جفت آغازگر تصادفی k1 و k2 و آغازگرهای دژنره و سپس آغازگرهای اختصاصی ویروس ردیابی شد. این گونه ویروسی با ۶۹/۷ درصد شباهت، بیشترین قرابت را با ویروس موزاییک سورگوم (SrMV) داشت (۴۵).

مطالعات در شمال غرب ایران کارایی بالای NIb2F/NIb3R در ردیابی *پوتی‌ویروس*ها را ثابت کرد و آلودگی‌ها به تنوعی از گونه‌های *پوتی‌ویروس* در شمال غرب ایران را روی سبزیجات مختلف آشکار کرد. در این مطالعه، ویروس موزاییک سویا برای اولین بار در ایران با PCR ردیابی شد (۴۹). طی سال زراعی ۱۳۸۷-۱۳۸۶، تعداد ۱۱۸ نمونه گیاه کدو با علائم موزاییک از مزارع اطراف ارومیه جمع‌آوری و با استفاده از آنتی‌بادی‌های چندهمسانه‌ای، ویروس‌های آلوده‌کننده کدو ردیابی شدند که در دو نمونه از این گیاهان ویروس نقطه زرد کدو وجود داشت و ویروس موزاییک هندوانه به‌عنوان شایع‌ترین ویروس در مزارع کدوئیان ارومیه شناخته شد (۵۰).

پریزاد و همکاران (۲۰۱۷) ۱۱۰ نمونه آلوده به علائم ویروسی گیاه نرگس را از نقاط مختلف کرج جمع‌آوری و با استفاده از آنتی‌سرم اختصاصی جنس *پوتی‌ویروس*ها با انجام آزمون الایزا و آغازگرهای جنس *پوتی‌ویروس* مورد بررسی قرار دادند. ترادف نوکلئوتیدی ۶۴۱ نوکلئوتید از قطعه‌ی ۷۲۰ جفت بازی محصول واکنش PCR تعیین شد که شامل دنباله‌ی Poly-A نیز هست. این اولین گزارش از ویروس narcissus yellow stripe virus در ایران بود (۵۱).

والوزی و همکاران (۲۰۱۹) با بررسی بوته‌های لوبیا، سایر لگومینوزها و علف‌های هرز در منطقه mid-Eurasia ایران با روش‌های الایزا و RT-PCR با آغازگرهای عمومی Nib و (WCIEN) NWCIEN گونه‌های *پوتی‌ویروس* شامل Bean common mosaic virus (BCMV)، Bean common mosaic necrosis virus (BCMNV)، Bean yellow mosaic virus (BYMV) و Wisteria vein mosaic

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-03]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1399.13.2.7.9]

virus (WVMV) را شناسایی کردند. آنها همچنین گونه جدید WVMV و میزبان جدید *Trifolium repens* را برای BYMV گزارش کردند (۵۲).

نتیجه‌گیری

بر اساس مطالب بیان‌شده می‌توان گفت، آغازگرهای دژنره Nib2F/Nib3R از کارایی بالایی در ردیابی *پوتی‌ویروس*ها برخوردار هستند. بررسی‌های انجام‌شده توسط ژانگ و همکاران (۲۰۰۸) نشان داد که طراحی آغازگرها باید هر چند وقت یکبار مورد تجدیدنظر قرار گیرد. به‌عبارت دیگر با افزایش توالی‌های *پوتی‌ویروس*ها در اطلاعات بانک ژن می‌توان آغازگرهایی با کارایی بیشتر طراحی کرد (۴).

همچنین علت اینکه تعدادی از آغازگرهای طراحی‌شده در گذشته به تدریج کارایی خود را از لحاظ ردیابی ژنوتیپ‌های جدید ویروسی از دست داده‌اند، به‌دلیل بروز تغییرات نوکلئوتیدی در مناطقی از ژنوم این ژنوتیپ‌ها در مقایسه با توالی آغازگرها بوده است. کارآیی این آغازگرها برای شناسایی *پوتی‌ویروس*ها در ایران نیز بسیار مفید ارزیابی شده است. روش‌هایی نظیر Real time PCR به علت تکرارپذیری، حساسیت و اختصاصی‌بودن کاربرد وسیعی در بررسی بیان ژن‌ها و همچنین اعتبارسنجی سایر روش‌های کاربردی در شناسایی بوته‌های آلوده به *پوتی‌ویروس*ها نسبت به گیاهان سالم دارند.

استفاده از فناوری ترانسکریپتوم نیز به‌عنوان یک روش مناسب در شناسایی *پوتی‌ویروس*ها و همچنین بررسی واکنش‌های بین پروتئین‌های این ویروس‌ها و رابطه آنها با پروتئین‌های میزبان محسوب می‌شود. همچنین این فناوری در تشخیص *پوتی‌ویروس*ها در آلودگی‌های مخلوط گیاهان و بررسی تکامل و فیلوژنی این ویروس‌ها نقش دارد.

به‌تازگی فناوری کریسپر به‌عنوان یک روش جدید برای ویرایش هدفمند ژنوم در سطح وسیعی از گونه‌ها معرفی شده است که بر اساس شواهد موجود می‌توان از این روش برای کنترل بیماری‌های ناشی از *پوتی‌ویروس*ها نیز استفاده کرد.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-03]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1399.13.2.7.9]

References فهرست منابع

1. Edwardson J.R. (1966). Electron microscopy of cytoplasmic inclusion in cells infected with rodshaped viruses. American Journal of Botany. 53: 359-364.
2. Fauquet C.M., Mayo M.A., Maniloff J., Desselberger U. and Ball L.A. (2005). Virus taxonomy: Eighth report of the international committee on taxonomy of viruses. Academic Press. 1162 pp.
3. Gibbs A.J., Hajizadeh M., Ohshima K. and Jones R.A.C. (2020). The Potyviruses: An evolutionary synthesis is emerging. Viruses. 12(2): 132.
4. Zhang L., Wayper P.J., Gibbs A.J., Fourment M., Rodoni B.C. and Gibbs M.X. (2008). A cumulating variation at conserved sites in *Potyvirus* genome is driven by species discovery and effects degenerate primer design. Plos ONE. 3: e 1586.
5. Berger P.H., Adams M.J., Barnett O.W., Brunt A.A., Hammond J., Hill J.H., Jordan R.L., Kashiwazaki S., Rybicki E., Spence N., Stenger D.C., Ohki S.T., Uyeda I., Van Z., Valkonen J. and Vetten H.J. (2005). Potyviridae. In: Fauquet C.M., Mayo M.A., Maniloff, J., Desselbergar U., and Ball, LA. Virus taxonomy: Eighth report of the international committee on taxonomy of viruses. Elsevier, California. 819-841.
6. Hall J.S., Adams B., Pearson T.J., French R., Lane L.C. and Jensen S.G. (1998). Molecular cloning, sequencing, and phylogenetic relationships of a new potyvirus: Sugarcane streak mosaic virus and a reevaluation of the classification of the potyviridae. Molecular Phylogenetic and Evolution. 10:323-332.
7. Martinez- Turino S. and Garcia J.A. (2020). Potyviral coat protein and genomic RNA: a striking partnership leading virion assembly and more. Advances in Virus research. 108: 165-211.
8. Hari V. (1981). The RNA of Tobacco etch virus: further characterisation and detection of protein linked to RNA. Virology. 112: 391-399.
9. Murphy J.F., Rhoads R.E., Hunt A.G. and Shaw JG. (1990). The VPg of Tobacco etch virus RNA is the 49-kDa proteinase or the N-terminal 24 KDa part of the proteinase or the N-terminal 24 KDa part of the proteinase. Virology. 178:285-288.
10. Riechmann J.L., Lain S. and Garcia J.A. (1989). The genome-linked protein and 5'end RNA sequence of plum pox potyvirus. Journal of General Virology. 70: 2785-2789.
11. Takeshita M., Matsuo Y., Suzuki M., Furuya N., Tsuchiya K. and Takanami Y. (2009). Impact of a defective RNA 3 from cucumber mosaic virus on helper virus infection dynamics. Virology. 389(1-2): 59-65.
12. Carrington J.C. and Freed D.D. (1990). Cap-independent enhancement of translation by a plant potyvirus 5' nontranslated region. Journal of Virology. 64:1590-1597.
13. Riechmann J.L., Cervera M.T. and Garcia A. (1995). Processing of the plum pox virus polyprotein at the Pэ-6к1 junction is not required for virus viability. Journal of General virology. 76:951-956.
14. Zhang L., Rodoni B.C., Gibbs M.J. and Gibbs A.J. (2010). A novel pair of universal primers for the detection of potyviruses. Plant Pathology. 59: 211-220.
15. Nicolas O. and Laliberte J.F. (1991). The use of PCR for cloning of large cDNA fragments of turnip mosaic *Potyvirus*. Journal of Virological Methods. 32: 57–66 .
16. Langeveld S.A., Dore J.M., Memelink J., Derks A.F.L.M., van der Vlugt C.I.M., Asjes C.J. and Bol J.F. (1991). Identification of potyviruses using the polymerase chain reaction with degenerate primers. Journal of General Virology. 72: 1531–1541.
17. Pappu S.S., Brand R., Pappu H.R., Rybicki E.P., Gough K.H., Frenkel M.J. and Niblett C.L. (1993). A polymerase chain reaction method adapted for selective amplification and cloning of 39 sequences of potyviral genomes: application to dasheen mosaic virus. Journal of Virological Methods. 41: 9–20.
18. Colinet D. and Kummert J. (1993). Identification of sweet potato feathery mottle virus isolate from china by the polymerase chain reaction with degenerate primer. Journal of Virological Methods. 45:149-159.
19. Pearson M.N., Jackson G.V.H., Pone S.P. and d Howitt R.L.J. (1993). *Vanilla* viruses in the South Pacific. Plant Pathology. 42: 127-131.
20. Gibbs A. and Mackenzie A. (1997). A primer pair for amplifying part of the genome of all the potyvirids by RT-PCR. Journal of Virology Methods. 63:9-16.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-03]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1399.13.2.7.9]

21. Shukla D.D., Ward C.W. and Brunt A.A. (1994). The *Potyviridae*. CAB International, Wallingford, UK. 516 pp.
22. Chen J., Chen J. and Adams M.J. (2001). A universal PCR primer to detect members of the *potyviridae* and its use to examine the taxonomic status of several members of the family. Archive of Virology. 146:757-766.
23. Holkar S.K., Kumar A., Meena M.R. and Lal R.J. (2017). Detection and partial molecular characterization of sugarcane mosaic virus infecting sugarcane genotypes. Journal of Environmental Biology. 38(3): 409-417.
24. Gibbs A.J., Mackenzie A.M. and Gibbs M.J. (2003). The potyvirid primers' will probably provide phylogenetically informative DNA fragments from all species of potyviridae. Journal of virological Methods. 112:41-44.
25. Adams M.J., Antoniw J.F. and Fauquet C.M. (2005). Molecular criteria for genus and species discrimination within the family Potyviridae. Archives of Virology. 150: 459–479.
26. Hsu Y.C., Yeh T.J. and Chang Y.C. (2005). A new combination of RT-PCR and reverse dot blot hybridization for rapid detection and identification of potyviruses. Journal of Virological Methods. 28:54-60.
27. Ha C., Coombs S., Revill P.A., Harding R.M., Vu M. and Dale J.L. (2008). Design and application of two novel degenerate primer pairs for the detection and complete genomic characterization of potyviruses. Archives of Virology. 153(1): 25-36.
28. Yamamoto H. and Fuji S. (2008). Rapid determination of the nucleotide sequencer of potyviral coat protein genes using semi-nested RT PCR with universal primer. Journal of General Plant Pathology. 74: 97-100.
29. Mehra A., Jabeen N., Singh A.K., Hall an V. and Zaidi A. (2009). A new *Chrysanthemum potyvirus*: molecular evidence. Archive of Phytopathology and Plant Protection. 42: 436- 441.
30. Zhang, X.S., Holt J. and Colvin J. (2001). Synergism between plant viruses: A mathematical analysis of the epidemiological implication. Plant Pathology. 50: 732-746.
31. Maciel S.C., Silva R.F.d., Reis M.S., Jadão A.S., Rosa D.D., Giampan J.S., Kitajima E.W., Rezende J.A.M. and Camargo L.E. (2011). Characterization of a new potyvirus causing mosaic and flower variegation in *Catharanthus roseus* in Brazil. Scientia Agricola. 68: 687–690.
32. Agindotan B.O., Shiel P.J. and Berger P.H. (2007). Simultaneous detection of potato viruses, PLRV, PVS, PVX and PVY from dormant potato tubers by TaqMan real time RT-PCR. Journal of Virological Methods. 142: 1-9.
33. Kumar R., Jeevalatha A., Baswaraj R., Kumar R., Sharma S. and Na M. (2017). A multiplex RT-PCR assay for simultaneous detection of five viruses in potato. Journal of Plant Pathology. 99 (1): 37-45.
34. Rubio L., Galipienso L. and Ferriol I. (2020). Detection of plant viruses and disease management: relevance of genetic diversity and evolution. Frontiers in Plant Science. 11: 1092.
35. Shen W., Shi Y., Dai Z. and Wang A. (2020). The RNA-dependent RNA polymerase NIb of *Potyviruses* plays multifunctional, contrasting roles during viral infection. Viruses: 12:77.
36. Ala-Poikela M., Rajamäki M.L. and Valkonen J.P.T. (2019). A novel interaction network used by *Potyviruses* in virus–host interactions at the protein level. Viruses. 11:1158.
37. Saha S. and Mäkinen K. (2020). Insights into the functions of eIF4E-binding motif of VPg in potato virus A infection. Viruses. 12:197.
38. Hervás M., Ciordia S., Navajas R., García J.A. and Martínez-Turiño S. (2020). Common and strain-specific post-translational modifications of the *Potyvirus* plum pox virus coat protein in different hosts. Viruses. 2020:12:308.
39. Cao Y., Zhou H., Zhou X. and Li F. (2020). Control of plant viruses by CRISPR/Cas system-mediated adaptive immunity. Frontiers in Microbiology. 11: 593700.
40. Zhou H., Liu B., Weeks D.P., Spalding M.H. and Yang B. (2014). Large chromosomal deletions and heritable small genetic changes induced by CRISPR/Cas9 in rice. Nucleic Acids Research. 1: 1–12.
41. Schenke D. and Cai D. (2020). Application of CRISPR/Cas to improve crop disease resistance: beyond inactivation of susceptibility factors. iScience. 23: 101478.
42. Zhu J., Song N., Sun S., Yang W., Zhao H., Song W. and Lai J. (2016). Efficiency and inheritance of targeted mutagenesis in maize using CRISPR-Cas9. Journal of Genetics and Genomics. 43(1): 25–36.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-03]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1399.13.2.7.9]

43. Masumi M., Zare A., Ghasemi S. and Izadpanah K. (2004). Relationship between two dominant strains of Sugarcane mosaic virus (SCMV) from Khuzistan and other SCMV strains based on nucleotide sequence of 3´-region of the genome. Proceedings of 16th Iranian Plant Protection Congress. Tabriz, Iran. 314. (In Farsi with English abstract).
44. Sadeghi M.S., Bejatnia S.A.A., Masumi M. and Izadpanah K. (2008). Characterization of a strain of potato virus Y causing eggplant mosaic in southern Iran. Australasian Plant Pathology. 37(1):79-86.
45. Masumi M., Zare A. and Izadpanah K. (2011). Biological, serological and molecular comparisons of potyviruses infecting poaceous plants in Iran. Iranian Journal of Plant Pathology. 47: 47-66. (In Farsi with English abstract).
46. Rastegar M., Izadpanah K., Masumi M., Siampour M., Zare A. and Afsharifar A. (2008). Analyses of the complete genome of wheat eqlid mosaic virus, a novel species in the genus *Tritimovirus*. Virus Genes. 37:212-217.
47. Esfandiari N., Kohi-habibi M. and Mosahebi Gh. (2006). Occurrence of viruses infecting pea in Iran. Communications in Agricultural and Applied Biological Science. 71: 1281-1287.
48. Masumi M., Zare A. and Izadpanah K. (2007). Taxonomic position of two Iranian isolates of Sugarcane mosaic virus (SCMV) based on sequence of the 3' -region of the genome. Iranian Journal of Plant Pathology. 43: 1-16. (In Farsi with English abstract).
49. Ghasemzadeh A., Sokhandan Bashir N. and Masoudi N. (2013). Sequencig part of watermelon mosaic virus genome and phylogenitical comparision of 5 isolate with other isolates from world. Journal of Agriculture and Food Technology. 2(6): 93-101.
50. Gorbani Sh., Rastgou M. and Abdollahi M. (2015). Determination of biological and molecular characteristics of Urmian isolate of Watermelon mosaic virus. Journal of Plant Protection. 28(4): 437-444. (In Farsi with English abstract).
51. Parizad Sh., Dizadji A., Koohi Habibi M., Mosahebi Mohammadi Gh., Kalantari S., Izadpanah F., Garcia- Arenal F. and Winter S. (2017). Identification and partial characterization of the virus infecting saffron (*Crocus sativus*) in Iran. Iranian Journal of Plant Protection Science. 47(2): 263-275. (In Farsi with English abstract).
52. Valouzi H., Golnaraghi A., Hashemi S.S., Abedini-Aminabad L. and Yazdani Khamaneh S. (2019). Detection of potyviruses infecting Iranian common beans using broad-spectrum antibodies and universal primer pairs. Canadian Journal of Plant Pathology. 41: 535-543.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-03]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1399.13.2.7.9]

History of molecular identification of Potyviruses

Saeedeh Dehghanpour Farashah[1], Mehrdad Salehzadeh[2*], Ahmad Ashrafi[3]

1- Assistant Professor, Department of Agriculture, Payame Noor University, Tehran, Iran.
2- PhD. Student of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Iran.
3- MSc. of Plant Pathology, Department of Agriculture, Malekan Azad University, Iran.

mehrdadsalehzadeh@gmail.com

Abstract

Potyviruses are one of the largest families of plant viruses (*Potyviridae*) with the most economic importance. Potyviruses have flexuous filaments and the genome consists of a positive sense single stranded RNA with 183 species. Today, biological, serological, and molecular assays are used to screen potyviruses. In this review, the application of different methods is described to the identification of potyviruses that are infected with a wide range of plants in Iran and the world. The use of primers, especially degenerate primers, has not only facilitated the rapid detection of potyviruses but also the sequencing of a part of the genome also makes the taxonomy of these viruses possible. Today, the TaqMan system has been developed and can show the number of early RNA copies of potyviruses in infected plants compared to healthy plants. Transcriptome technology demonstrates complex reactions between putative multifunctional proteins and their association with host proteins. This method is involved in the detection of molecular and physiological responses of infected plants with potyviruses as well as their evolution and phylogeny. CRISPR technology is one of the effective and novel methods for purposeful editing of the genome that is used to improve the quality and yield of plants and create new characteristics in them. This method can be used to produce resistant plants to potyviruses.

Keywords: CRISPR, Degenerate Primer, *Potyviridae*, TaqMan, Transcriptome.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-08-03]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1399.13.2.7.9]