

رديابي ویروس S سیب زمینی (PVS) با استفاده از روش های سرولوژیکی و مولکولی در استان های خراسان رضوی و همدان

سمیرا پاکباز^۱, بهروز جعفرپور^۲, ماهرخ فلاحتی رستگار^۲

^۱دانشجوی کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

^۲استاد گروه گیاهپرشنگی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

Samira.pakbaz@gmail.com

ویروس S سیب زمینی متعلق به جنس *Carlavirus* و از خانواده *Flexiviridae* می باشد و دارای ذرات رشته ای خمیده به ابعاد 12×650 نانومتر و زنوم RNA تک رشته ای مثبت می باشد. این ویروس یکی از متداول ترین ویروس هایی است که تمام واریته های سیب زمینی موجود در دنیا را آلوده می کند. گونه های حساس به PVS در سه خانواده Amaranthaceae و Chenopodiaceae و Solanaceae یافت می شوند. این ویروس از طریق مایه زنی مکانیکی و همجنین توسط شنه سیز هلو *Myzus persicae* به صورت نایابا منتقل می شود. به منظور ریدیابی ویروس در منطقه، تعداد ۵۵۵ نمونه از غده های گیاهانی که علاوه بر نظیر موزاییک، لکه های نکروتیک، فرورغنگی جزئی رگبرگ، رگوز، تمواج حاشیه برگ، پژمردگی و کوتولگی را نشان می دادند، از حدود ۵۰ مزرعه در استان های خراسان رضوی و همدان جمع آوری شدند. سیس غده ها جهت گذراندن دوره خواب در دمای 40°C قرار گرفتند. پس از جوانه زنی با استفاده از آنتی سرم پلی کلونال و اختصاصی PVS در آزمون سرولوژیکی DAS-ELISA. غده های آلوده به این ویروس شناسایی شدند. عصاره تعدادی از نمونه هایی که در آزمون الیزا مثبت ارزیابی شدند، بر روی گیاهان محکم شامل *C. amaranticolor*, *Chenopodium quinoa* (ایجاد نقاط کلروتیک روی برگ), *Lycopersicon esculentum* (موزاییک شدید)، *Nicotiana debneyi*, (*N. glutinosa*) (رگبرگ روشنی) و *PEG6000* (اشیت، ۲۰۰۳) استفاده شد. به منظور تأیید نتایج الیزا در نمونه های آلوده از RNA از روش رسوب با RT-PCR و پرایمرهای اختصاصی جهت تکثیر ژن کد کننده پروتئین بوشی ویروس استفاده شد. جهت سنتز طبلق دستورالعمل شرکت Fermentas عمل شد. آغازگرهای اختصاصی PVS-R و PVS-F و قطعه ای به طول ۱۱۱۸ جفت باز مربوط به ژن پروتئین بوشی ویروس را تکثیر کردند.

واژه های کلیدی:
ویروس S سیب زمینی، RT-PCR و DAS-ELISA

Detection of *Potato virus S* by serological and molecular methods in Khorasan Razavi and Hamedan provinces

Pakbaz, S¹, Jafarpour, B², Falahati Rastegar, M²

¹M.Sc. student of College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad

²Prof. of Department of Plant Protection, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad

samira.pakbaz@gmail.com

Potato virus S is a member of the genus *Carlavirus* in the family *Flexiviridae*, with curved filamentous particles 650×12 nm and positive single stranded RNA genome. This virus is one of the most common viruses that infected all of potato varieties in the world. Susceptible host species belong mainly to the families Solanaceae, Chenopodiaceae and Amaranthaceae. This virus transmits by mechanical inoculation and also by *Myzus persicae* in non-persistent manner. For virus detection, 555 tubers from plants showing symptoms of mosaic, necrotic spots, vein partial deepening, rugosity, undulation of the margin, wilting and dwarfing from 50 fields in Khorasan Razavi and Hamedan provinces were collected. After tubers passed dormancy period at 4°C and germinated, PVS polyclonal and special antiserum were used in DAS-ELISA to identify infected potato tubers. Sap of infected samples inoculated on indicator plants such as *Chenopodium quinoa*, *C. amaranticolor* (chlorotic spots on the leaf), *Nicotiana debneyi* (severe mosaic), *N. glutinosa* (vein clearing) and *Lycopersicon esculentum* (mosaic). Results of ELISA test indicated that 69 samples out of 555 samples were infected. RNA extraction was done by PEG₆₀₀₀ Precipitation method (Schmitz, 2003). To confirm the results of ELISA test, we used RT-PCR and specific primer for amplification of coat protein gene. For cDNA synthesis we used protocol of Fermentas Company. Specific primers of PVS-F and PVS-R amplified 1118 bp fragment related to coat protein of the virus.

Key words:
PVS, DAS-ELISA, RT-PCR