

شناسائی و تعیین برخی خصوصیات مولکولی جدایه ایرانی ویروئید استرالیائی مو

محمد زکی عقل و کرامت اله ایزدپناه

مرکز ویروس شناسی گیاهی و بخش گیاهپزشکی دانشگاه شیراز

ویروئید استرالیائی مو متعلق به جنس *Apocaviroid* از خانواده *Pospiviroidae* و دارای دامنه میزبانی و انتشار جغرافیائی محدود است. به منظور شناسایی این ویروئید در ایران نوکلئیک اسید تاکهای آلوده پس از عصاره گیری در بافر فسفات ۹۵ میلی مولار با استفاده از SDS و استات پتاسیم زلال سازی و به کمک استات سدیم و ایزوپروپانول رسوب داده شد. شناسائی ویروئید به روش RT-PCR و با استفاده از آغازگرهای (Wan Chow Wah & Symons ۱۹۹۷) انجام و محصول PCR پس از همسانه سازی تعیین ترادف شد.

نتایج PCR نشان دهنده آلودگی تاکستانهای مورد بررسی به ویروئید مزبور بود. در اغلب موارد آلودگی به ویروئید استرالیائی مو همراه با ویروئیدهای عامل لکه زرد مو (Grapevine yellow speckle viroid 1, 2) و ویروئید کوتولگی رازک (Hop stunt viroid) بود و تعداد کمی از نمونه ها فقط به ویروئید استرالیائی مو آلوده بودند. در تاکهای آلوده به AGVd علائم خاصی مشاهده نشد، ولی تزریق نوکلئیک اسید خالص شده از مو به خیار باعث ایجاد کوتولگی و در گوجه فرنگی علاوه بر کوتولگی بدشکلی برگ و پیسک خفیف نیز مشاهده شد. در هیچ مورد نکروز جوانه انتهائی مشاهده نشد. نتایج تعیین ترادف نشان داد که جدایه ایرانی ویروئید استرالیائی مو از ۳۷۱ باز تشکیل شده و ۹۸ درصد با جدایه های بانک ژن شباهت دارد و بیشترین قرابت آن با جدایه های چین است. بیشترین تفاوت جدایه ایرانی AGVd با جدایه تیپ در انتهای سمت چپ و ناحیه بیماری زایی بود. اضافه شدن دو باز U28 و A67 به ژنوم جدایه ایرانی باعث بروز تغییراتی در ساختمان ثانویه این ویروئید به خصوص در ناحیه بیماری زائی شده است و در این ناحیه تولید یک لوپ جدید شده و میزان باز جفتی در این ناحیه کاهش یافته است. نیمه سمت راست ساختمان ثانویه جدایه ایرانی جز در U211A مشابه جدایه تیپ بود. ردیابی ویروئید استرالیائی مو از تاکستانهای ایران برای اولین مرتبه گزارش می شود. تفاوت در ساختمان ناحیه بیماری زائی ممکن است بر شدت و نوع علائم تاثیر گذار باشد و برای بررسی این مسئله نیاز به انجام ژنتیک معکوس می باشد.

Identification and partial molecular characterization of Iranian isolate of Australian grapevine viroid

M. Zakiagh and K. Izadpanah

Plant Virology Research Center and Plant Protection Dept., Shiraz University

Australian grapevine viroid (AGVd) is a member of the genus *Apocaviroid* (*Pospiviroidae*) with restricted host range and distribution. For identification of this viroid in Iran, sap was extracted from grapevine leaves in 95 mM phosphate buffer, clarified by addition of SDS and potassium acetate, and treated with sodium acetate and isopropanol to isolate the nucleic acid. The latter was subjected to RT-PCR using AGVd specific primers reported by Wan Chow Wah & Symons (1997). PCR products were cloned and sequenced. The results confirmed infection of vineyards with AGVd in mixed infection with GYSVs and HSVd. Single infection with AGVd was rare. AGVd had no visible symptoms on grapevine but produced stunting, leaf deformation and faint mottling in cucumber and tomato. Top necrosis was not observed. Iranian isolate of AGVd was composed of 371 bases, two bases more than the type strain. It has 98 percent homology with sequences deposited in GenBank and closely related to Chinese isolate. Presence of extra nucleotides cause changes in secondary structure of Iranian isolate especially in the terminal left and pathogenicity domains. In other part of genome, Iranian isolate was identical to type strain except in U211A.

