

## بررسی قدرت بیماری زائی جدایه ایرانی ویروئید استرالیائی مو در میزبانهای آزمایشگاهی

محمد زکی عقل<sup>۱،۲</sup>، کرامت اله ایزدپناه<sup>۱،۲</sup>، علی نیازی<sup>۲،۳</sup>، سید علی اکبر بهجت نیا<sup>۱،۲</sup> و علیرضا افشاری فر<sup>۱،۲</sup>

۱- بخش گیاهپزشکی دانشگاه شیراز

۲- مرکز تحقیقات ویروس شناسی دانشگاه شیراز

۳- مرکز زیست فن آوری دانشگاه شیراز

ویروئید استرالیائی مو (AGVd) دارای بیشترین میزان باز جفتی در ساختمان ثانویه در بین ویروئیدهای خانواده *Pospiviroidae* است. این ویروئید علی رغم توانائی همانند سازی در مو، علائم مشخصی بروی این گیاه تولید نمی کند. بعلاوه AGVd در میزبانهای آزمایشگاهی نیز معمولاً علائم چندانی ندارد. محققین یکی از دلایل فقدان علائم این ویروئید را ساختار ثانویه فشرده و باز جفتی زیاد در موتیف AAAGAAAA در ناحیه بیماری زائی آن می دانند. در جدایه ایرانی این ویروئید (AGVd-Ir) وارد شدن دو باز در ژنوم در ناحیه بیماری زائی باعث کاهش باز جفتی در این ناحیه شده است. بمنظور بررسی اثرات این تغییر در بیولوژی ویروئید، دایمر کامل از ژنوم ویروئید AGVd-Ir تولید و در ناقل دوگانه pBin19 الحاق و به باکتری *Agrobacterium tumefaciens* strain C58C1 منتقل شد. تأیید عفونت زائی به روش Agroinfiltration با مایه زنی گیاهان خیار و گوجه فرنگی انجام شد. حذف لوپ اضافی و افزایش باز جفتی در ناحیه بیماری زائی AGVd-Ir در همسانه عفونت زا به روش Site-Directed Mutagenesis با استفاده از PCR انجام شد. بررسی ها نشان داد که همسانه تولید شده در خیار و گوجه فرنگی عفونت زا بوده و چهار هفته پس از مایه زنی علائمی مشابه با علائم مایه زنی اولیه از مو شامل کوتولگی، بدشکلی برگ و پیسک خفیف در این گیاهان ایجاد می کند. نتایج PCR و Dot blot hybridization نشان دهنده توانایی همانند سازی موتانت تولید شده در خیار و گوجه فرنگی بود. علائم موتانت در خیار و گوجه فرنگی خفیف تر از علائم تیپ وحشی بود. میزان تجمع ویروئید در گیاهان مایه زنی شده با موتانت حدود ۲۴ درصد کمتر از تیپ وحشی بود لیکن این تغییر بر توانائی انتقال ویروئید تأثیر معنی دار نداشت و در اغلب گیاهان مایه زنی شده آلودگی سیستمیک ردیابی شد. نتایج حاصل نشان داد که تفاوت موجود در جدایه وحشی AGVd-Ir باعث افزایش توانائی بیماری زائی این جدایه در گوجه فرنگی شده است و شدت علائم را افزایش میدهد لیکن تغییر محسوس در نوع علائم وجود نداشت. این تغییر بر توانائی حرکت سیستمیک ویروئید در گیاه کاملاً بی تأثیر است.

## Determination of aggressiveness of Iranian isolate of Australian grapevine viroid

M. Zaki-aghl<sup>1,2</sup>, K. Izadpanah<sup>1,2</sup>, A. Niazi<sup>2,3</sup>, S.A.A. Behjatnia<sup>1,2</sup> and A.R. Afsharifar<sup>1,2</sup>

1- Dept. of Plant Protection, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran

2- Plant Virology Research Center, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran

3- Institute of Biotechnology, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran

Australian grapevine viroid (AGVd) has highest degree of base pairing in the family *Pospiviroidae*. It replicates without any symptoms in grapevine and produces mild symptoms in experimental hosts. Base paired secondary structure especially in pathogenicity domain and AAAGAAAA motif of this domain may be account for it's mild behavior. Iranian isolate of this viroid (AGVd-Ir) has two extra nucleotides forming a loop in the pathogenicity domain. To study the role of this loop infectious clone of the viroid was constructed and dimer construct ligated in pBIN19 binary vector and transferred to *Agrobacterium tumefaciens* strain C58C1. Infectivity of the construct was tested by agroinfiltration to cucumber or tomato. Mutation was created in the genome to disrupt the extra loop using site directed mutagenesis and PCR. Dimer construct of AGVd can replicate in tomato and cucumber causing stunting, leaf deformation and mottling four weeks postinoculation. Symptoms were similar to those developed by nucleic acid injection of AGVd from grapevine. PCR results and dot-blot hybridization data confirmed the ability of AGVd mutant to replicate in inoculated plants. The mutant caused milder symptoms in cucumber and tomato. Accumulation of the mutant was 24% lower in tissues than wild type. However, the ability of systemic movement was not affected and mutant AGVd-Ir became systemic in most inoculated plants. Infectivity test and mutation analysis showed that changes in pathogenicity domain of AGVd-Ir increases aggressiveness of the viroid but has no effect on it's symptom type and systemic movement.