Healthy Plant Healthy Planet

گیاه سالم جهان سالم

20th Iranian Plant Protection Congress

26-29 August 2012 , Shiraz University

بیستمین کنگره‌ی گیاه‌پزشکی ایران

۴-۷ شهریور ۱۳۹۱، دانشگاه شیراز

تعیین ساختارهای موثر در حرکت سیستمیک ویروئید استرالیائی مو در گیاه

محمد زکی عقل[۱و۲]، کرامت اله ایزدپناه[۱]، علی نیازی[۳]، علیرضا آفشاریفر[۱] و علی اکبر بهجت نیا[۱]

۱- مرکز تحقیقات ویروس شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز ۲- گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد ۳- پژوهشکده بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

بررسی موتانت ها ابزاری قدرتمند در مطالعه بیولوژی ویروئیدها است. برای شناسائی ساختارهای دخیل در حرکت سیستمیک اپسکاویروئیدها (*apscaviroids*) در گیاه، ۱۹ موتانت در ویروئید استرالیائی مو (AGVd) طراحی شد. از دایمر ناقص جدایه ایرانی AGVd به عنوان منبع ویروئید برای تولید موتانتها استفاده شد. جهش ها با استفاده از کیت Quikchange® II XL site-directed mutagenesis kit (Stratagene) تولید و با تعیین ترادف تائید شدند. موتانت ها سپس به *A. tumefaciens* C5850C1 منتقل شده و در برگ های کوتیلدونی خیار مایه زنی شدند. توانائی همانند سازی موتانتها بوسیله RT-PCR سه هفته پس از مایه زنی تعیین شد. میزان حرکت سیستمیک موتانتها در برگهای جدید خیار در قالب طرح بلوک کامل تصادفی و به وسیله کاوشگر کامل AGVd-Ir که با DIG نشاندار شده بود، انجام شد. تکثیر باند ۳۷۰ bp در واکنش RT-PCR وجود جمعیت جد ید AGVd-Ir در برگهای مایه زنی شده خیار را تائید کرد و هیچ یک از موتانت ها کشنده نبودند. موتانت های AGVd-Ir در برگهای حقیقی خیارهای مایه زنی شده به وسیله هیبرید سازی نقطه ای با موفقیت شناسائی شدند. میزان حرکت سیستمیک موتانتهای سمت چپ CCR مشابه با تیپ وحشی بود و از لحاظ آماری اختلاف معنی دار نداشتند؛ لیکن جهش در سایر نواحی میزان حرکت سیستمیک را تا ۷۵ درصد تیپ وحشی یا کمتر کاهش داد که از لحاظ آماری دارای اختلاف معنی دار بود. از لحاظ توانائی حرکت در گیاه موتانتهای AGVd-Ir به چهار گروه تقسیم شدند. میزان حرکت سیستمیک در آنها بترتیب ۱۰۰-۷۵، ۷۵-۶۰، ۶۰-۴۰ و کمتر از ۴۰ درصد تیپ وحشی بود. نتایج این تحقیق نشان داد که اغلب جهش ها باعث کاهش در نرخ حرکت سیستمیک AGVd-Ir میشوند لیکن مهمترین ساختارها در ناحیه TR قرار دارند.

Identification of structural elements critical in systemic movement of Australian grapevine viroid in plant

M. Zaki Aghl[1,2], K. Izadpanah[1], A. Niazi[3], A. R. Afsharifar[1], S. A. A. Behjatnia[1]

1- Plant Virology Research Center, College of Agriculture, Shiraz University 2- Plant Protection Department, College of Agriculture, Ferdowsi University 3- Institute of Biotechnology, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz

Mutational analysis is a powerful technique in studying the biology of viroids. To identify the structural elements involved in systemic movement of apscaviroids, 19 mutants in the secondary structure of Australian grapevine viroid (AGVd) were designed. Partial dimer of Iranian isolate of AGVd (AGVd-Ir) was used as viroid source for creating mutants. Mutations were created by using Quikchange® II XL site-directed mutagenesis kit (Stratagene) and verified by sequencing. Mutants were cloned into *A. tumefaciens* C5850C1 and agroinfilterated into cotyledons of cucumber. Replications of mutants were verified three weeks postinoculation using RT-PCR. Trafficking of AGVd-Ir mutants was studied in an experiment with randomized complete block design using Dig-labeled AGVd-Ir full length probe in non-inoculated leaves of cucumber. Amplification of a 370 bp fragment using RT-PCR confirmed the presence of *de novo* population of AGVd-Ir mutants in inoculated cucumber cotyledons. The mutants were not lethal. Dot blot hybridization successfully detected AGVd-Ir mutants in true leaves of inoculated cucumber plants. The rates of systemic trafficking of mutants with the mutation in the left side of CCR were similar to that of wild type and their difference from the wild type was not significant. But mutations in other parts reduced the rate of systemic movement 75% compared to the wild type and the difference was statistically significant. Trafficking ability divided AGVd-Ir mutants in four classes of equivalent, indolent, infirm and defective with 75-100, 60-75, 40-60 and less than 40% of wild type efficiency. The results of this study showed that most mutations cause a decrease in systemic trafficking of AGVd-Ir, but the most important structures were located at TR domain.