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

تولید سازه شیمری از ویروئیدهای استرالیائی و لکه زرد مو-۱

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

ویروئیدها به رغم اندازه کوچکشان ژنوم پیچیده ای دارند. یکی از روشهای مطالعه خصوصیات بیولوژیکی ویروئیدها تولید مولکولهای شیمر است. در این تحقیق شیمری از ویروئید استرالیائی مو (Australian grapevine viroid-AGVd) و ویروئید لکه زرد مو (Grapevine yellow speckle viroid-GYSVd1) تولید و برای مطالعه ژنوم در اپسکاویروئیدها (*apscaviroids*) مورد استفاده قرار گرفت. برای ساخت شیمر ۲۰۹ نوکلئوتید از جدایه ایرانی ویروئید استرالیائی مو و ۱۶۳ نوکلئوتید از ویروئید لکه زرد مو-۱ بوسیله واکنش زنجیره ای پلی مراز تکثیر و در محل سایت برشی *Sal*I در ناحیه CCR بیکدیگر متصل شدند. سپس سازه تحت کنترل پروموتر 35s بوسیله اگروباکتریوم به گیاهان خیار، گوجه فرنگی و توتون مایه زنی شده و ایجاد جمعیت جدید از ویروئید در برگهای جوان بوسیله RT-PCR بررسی شد. در شیمر AGYS نواحی P و TL متعلق به ویروئید استرالیائی مو و ترادف نواحی V و TR از ویروئید لکه زرد مو تامین شده بود. نیمی از CCR متعلق به AGVd و نیمه دیگر مربوط به GYSVd1 بود. نتایج RT-PCR نشاندهنده تولید جمعیت جدیدی از شیمر در گیاهان خیار، گوجه فرنگی و توتون مایه زنی شده بود. شیمر AGYS تولید علائم کوتولگی، بدشکلی و پیچیدگی برگ، رگبرگ روشنی، زردی، عقیمی، مرگ جوانه انتهائی و مرگ گیاه کرد. مطالعه این مولکول نشان داد که عوامل تعیین کننده بیماری زائی، همانند سازی و دامنه میزبانی در سمت چپ ناحیه CCR قرار دارد. نوع علائم بوسیله نواحی V و TR و شدت علائم در ارتباط با ناحیه P در ساختار ثانویه ویروئید است. این اولین گزارش در مورد ساخت شیمر از دو اپسکاویروئید مو است.

Construction of intermolecular chimera from Australian grapevine viroid and grapevine yellow speckle viroid 1

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

Despite their small size, viroids have a complex genome. Generation of chimera molecule is an approach to identify biological aspects of viroids. In this study, chimera was made from Australian grapevine viroid (AGVd) and Grapevine yellow speckle viroid (GYSVd1) and used to study functional domains of apscaviroids. To generate chimera, 209 nucleotides of AGVd-Ir and 163 nucleotides of GYSVd1 were amplified using PCR, and ligated at *Sal*I site at the CCR. The construct put under control of 35s promoter and agroinfilterated to Cucumber, Tomato and *N. glutinosa* and checked for *de novo* populations of viroid in systemic leaves using RT-PCR. In AGYS chimera, TL and P domains originated from AGVd and full length of V and TR domains were provided by GYSVd1. Half of CCR domain originated from AGVd and the other half from GYSVd1. *De novo* populations were generated in cucumber, tomato and *N. glutinosa* plants as confirmed by RT-PCR, but GYSVd1was not infectious to these plants. AGYS induced stunting, deformation and crinkling of leaves, vein clearing, yellowing, sterilization, top necrosis and plant death. It demonstrated that factors determining infectivity, replication and host range were located in the left side of CCR. The symptoms type was determined by V or TR domains and severity of symptoms is associated with the P domain of the viroid. This is the first report of chimera construction between two *apscaviroids* of grapevine.