

Healthy Plant
In
Our Hands



گیاه سالم
در
دستان ما

21st Iranian Plant Protection Congress

23-26 August 2014
Urmia University



<http://ippc.ut.ac.ir>
www.urmia.ac.ir

بیست و یکمین
کنگره ی
گیاه پزشکی
ایران

۱ تا ۴ شهریورماه ۱۳۹۳
دانشگاه ارومیه



سبب زمینی M تعیین ترادف کامل ژنوم جدایه ایرانی ویروس

فاطمه طبسی نژاد^۱، بهروز جعفرپور^۲، محمد زکی عقل^۲، حمید روحانی^۲، محسن مهرور^۲^۱ دانشجوی دکتری بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران^۲ گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران

Fatemeh_tabasinezhad@yahoo.com

ویروس M سبب زمینی (*Potato virus M*) از خانواده *Betaflexiviridae* و جنس *Carlavirus* است. پیکره های ویروس رشته ای و دارای یک قطعه آر.ان.ای تک لای مثبت به اندازه تقریبی ۸/۵ کیلو باز و شش چهارچوب ژنی است. بمنظور تعیین ترادف کامل ژنوم جدایه ایرانی ویروس استخراج آر.ان.ای از گیاهان آلوده انجام شد. تکثیر طول کامل ژنوم PVM با دو جفت آغازگر اختصاصی طراحی شده انجام شد. قطعات بدست آمده پس از هضم آنزیمی توسط اندونوکلاز *XbaI* در ناقل pTZ57R الحاق و در سویه DH5 α باکتری *Escherichia coli* همسانه سازی شدند. تعیین ترادف ژنوم کامل ویروس PVM به روش Primer walking با استفاده از آغازگرهای عمومی M13 و یا آغازگرهای اختصاصی طراحی شده انجام شد. در واکنش RT-PCR قطعاتی به طول ۴۶۸۴ و ۴۱۰۷ جفت باز همانندسازی شد که دارای ۲۶۸ نوکلئوتید همپوشان بودند. از توالی یابی این قطعات ترادف کامل ژنوم جدایه ایرانی PVM به طول ۸۵۲۳ جفت باز بدست آمد که با رس شمار JX678982 در پایگاه NCBI ثبت شد. ژنوم کامل جدایه ایرانی PVM با جدایه های موجود در بانک ژن ۹۳/۱-۹۶/۷ در سطح نوکلئوتیدی شباهت داشت. جدایه ایرانی PVM در آنالیز هر یک از ژنهای یا طول کامل ژنوم ارتباط نزدیکی با جدایه های آلمان [EU604672] و روسیه [D14449] داشت. در ژنهای پروتئینهای پلی مرز و پوششی جدایه ایرانی به ترتیب ۹۵-۹۷/۱ و ۹۷/۷-۹۹/۳ درصد با جدایه های موجود در بانک ژن شباهت داشتند. در ناحیه بلوک سه ژنی بیشترین شباهت با جدایه آلمان به میزان ۹۸/۴٪ و کمترین شباهت با جدایه لهستان [AY311395] به میزان ۹۱/۱٪ بود. پروتئین یازده کیلو دالتونی جدایه ایرانی نیز ۹۶-۹۹/۴٪ را با جدایه های بانک ژن شباهت داشت. در ژنوم جدایه ایرانی PVM بیشترین تغییرات در بلوک سه ژنی بود. این اولین گزارش از تعیین ترادف کامل PVM در ایران است.

Sequencing of the full length genome of Iranian isolates of Potato virus M

Fatemeh Tabasinejad¹, Behrooz Jafarpour², Mohammad Zakiagh², Hamid Rowhani², Mohsen Mehrvar²

1- Ph.D student in Department of Plant Pathology, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

2- Department of Plant Pathology, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

Fatemeh_tabasinezhad@yahoo.com

Potato virus M (PVM) is a member of the genus *Carlavirus* in the family *Betaflexiviridae*. It has flexuous filamentous particles containing a single-stranded, positive-sense RNA genome of about 8.5 kb with six open reading frames. Total RNA were extracted from infected plants. Full length genome of PVM was amplified two specific primer pairs. The fragments treated with *XbaI* endonuclease, then ligated in pTZ57R plasmids and cloned into DH5 α strain of *Escherichia coli*. Using universal or specific oligonucleotides primer walking was carried out to determine the genomic sequence of PVM. 268 nucleotides Overlapped PCR products of 4684 and 4107 bp fragments were amplified from the PVM genome in RT-PCR. These products were cloned and sequenced. Sequence results indicated that the Iranian isolate of PVM contains 8523 nucleotides (JX678982). Full length genome of Iranian isolate of PVM had 93.1-96.7% of homology at the nucleotide level with those deposited in the GenBank. Polymerase, Coat protein, ORF6 showed 95-97.1%, 97.7-99.3% and 96-99.4% similarity, respectively, when compared to their responding frames of PVM found in the GenBank. The comparison between the triple gene block of the Iranian isolate and the GenBank indicated the highest degree (98.4%) of similarity to German isolate [EU604672], while the lowest degree (91.1%) of similarity found when compared to the corresponding frames of Poland isolate [AY311395]. TGB was the most divergent frames in the genome of Iranian isolate of PVM. Based on our knowledge it's the first report of complete nucleotide sequence of PVM from Iran.