

بیست و دومین کنگره گیاهپزشکی ایران



۶ تا ۹ شهریور ۱۳۹۵ - پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج



مجموعه مقالات کنگره

تدوین: رضا طلایی حسنلویی

استاد دانشگاه تهران

ساخت سازه عفونت‌زا و اثبات بیماری‌زایی ویروئیدهای مرکبات

لیلا ابراهیمی مقدم^۱، محمد زکی عقل^{۲*}، بهروز جعفرپور^۲ و محسن مهرور^۲

۱. دانشجوی دکتری بیماری‌شناسی گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده علوم کشاورزی، گروه گیاه پزشکی

۲. عضو هیئت علمی دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده علوم کشاورزی، گروه گیاه پزشکی

zakiaghl@um.ac.ir

تاکنون شش ویروئید شامل ویروئید آگزوکورتیس مرکبات (*Citrus exocortis viroid*, CEVd) از جنس *Pospiviroid*، ویروئید کوتولگی رازک (*Hop stunt viroid*, HSVd) از جنس *Hostuviroid*، ویروئید ترک خوردگی پوست مرکبات (*Citrus bark cracking viroid*, CBCVd) از جنس *Cocadviroid*، ویروئید تاخوردگی برگ مرکبات (*Citrus bent leaf viroid*, CBLVd)، ویروئید کوتولگی مرکبات (*Citrus dwarfing viroid*, CDVd) و ویروئید پنج مرکبات (*Citrus viroid V*, CVdV) از جنس *Apscaviroid* در گونه‌های مرکبات شناسایی شده‌اند. این ویروئیدها به طور طبیعی در مرکبات بصورت آلودگی مخلوط دیده می‌شوند. بجز CEVd و HSVd که دارای دامنه میزبانی وسیعی هستند، سایر ویروئیدهای مرکبات محدود به گونه‌های *Citrus* هستند. به منظور مطالعه برهمکنش ویروئید با گیاه میزبان همسانه عفونت‌زا از ویروئیدهای مرکبات ساخته و آزمون بیماری‌زایی انجام شد. استخراج اسید نوکلئیک از نهال پرتقال خونی مورو (*Moro blood orange*) به روش SDS-استات انجام شد. در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراس با نسخه‌برداری معکوس (RT-PCR) با استفاده از آغازگرهای اختصاصی هر ویروئید طول کامل ژنوم ویروئیدهای CEVd، HSVd، CBCVd، CDVd و CBLVd همانند سازی شد و ویروئید پنج مرکبات از اسپانیا دریافت گردید. محصول PCR در حامل pTZ57R/T الحاق و در سویه XL Gold باکتری *Escherichia coli* همسانه‌سازی و توالی‌یابی شد. با استفاده از آنزیم‌های برشی، ژنوم کامل ویروئیدها از ناقل pTZ57R خارج شده و در حامل دوتایی pBin62SK تحت کنترل پیش‌بر ۳۵S ویروس موزائیک گل کلم (CaMV) الحاق شدند. سازه‌های نو ترکیب ساخته‌شده به روش ذوب و یخ به سلول‌های باکتری *Agrobacterium tumefaciens* سویه C5850 و GV1301 انتقال داده شدند. آزمون بیماری‌زایی به روش *Agroinoculation* در گیاهان گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) و نارنج سه برگ (*Poncirus trifoliata*) انجام شد. سه هفته بعد از مایه زنی طول کامل ژنوم هر ویروئید از اسید نوکلئیک استخراج شده از برگ‌های جدید گیاهان مایه زنی شده با آزمون RT-PCR با استفاده از آغازگرهای اختصاصی هر ویروئید همانند سازی و تعیین ترادف شد. پس از گذشت شش هفته علائم ریزبرگی، پیسک و روخمشی توسط ویروئیدهای CVdV و CBCVd، علائم پیسک توسط ویروئید CDVd و علائم روخمشی و بدشکلی پیچیدگی توسط ویروئیدهای CEVd، HSVd و CBLVd در برگ‌های جوان گوجه‌فرنگی ظاهر شدند لیکن در روی پونسیروس علائمی مشاهده نشد. ردیابی ویروئید در برگ‌های جدید گیاهان مایه زنی شده بیانگر عفونت‌زایی سازه ساخته‌شده در گیاهان گوجه‌فرنگی و پونسیروس است. همسانه عفونت‌زای CEVd و HSVd پیش‌تر ساخته شده ولی این اولین گزارش از ساخت همسانه عفونت‌زای ویروئیدهای CBCVd، CDVd، CBLVd و CVdV است. سازه عفونت‌زای ساخته شده می‌تواند در مطالعه بیولوژی و برهمکنش ویروئیدهای مرکبات با یکدیگر یا با میزبان مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: ویروئید، آگزوکورتیس، مرکبات، همسانه.