Archive of SID

ردیابی نپوویروس‌های آلوده‌کننده انگور در تاکستان‌های استان تهران

سیمین صباغیان[1*]، فرشاد رخشنده‌ی[1] و تافیک البینو[2]

1-گروه بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی، تهران.

samin.vic@gmail.com

2- انستیتو کشاورزی مدیترانه، والنزو (BA)، ایتالیا.

درختچه انگور (Vitis vinifera) از خانواده Vitaceaeاست. در این خانواده بیش از 11 جنس و بیش از 600 گونه وجود دارد. بیماری‌های ناشی از نپوویروس‌ها از مهم‌ترین بیماری‌های ویروسی در سراسر جهان به‌حساب می‌آید. نپوویروس‌ها بر مبنای توالی ژنتیکی پروتئین پوششی که در انتهای 3' ژنوم قرار دارد به 3 زیرگروه A، B و C تقسیم می‌شوند. در این تحقیق، نمونه‌برداری‌ها در فصول بهار و تابستان سال 94 انجام و تعداد 150نمونه از برگ انگورهای دارای علائم مشکوک و بدون علائم به‌صورت تصادفی از تاکستان‌های واقع در شهرهای مختلف استان تهران جمع‌آوری شد. از 150نمونه جمع‌آوری‌شده تعداد 80 نمونه بر اساس اولویت شدت علائم بااستفاده از آزمون سرولوژی کالایزای مستقیم و آنتی سرم پلی کلونال اختصاصی برای حضور نپوویروس‌ها موردبررسی قرار گرفت که تعداد 32 نمونه دارای واکنش مثبت با آنتی سرم پلی کلونال اختصاصی نپوویروس‌ها بودند. جدایه‌های دارای واکنش مثبت در آزمونالایزا تا دو هفته بعد از مایه‌کوبی مکانیکی روی گیاهان محک علفی تحت شرایط گلخانه‌ای علائم اختصاصی نپوویروس‌ها را ایجاد نمودند. نتایج نشان داد نپوویروس‌ها در تاکستان‌های استان تهران با درصد آلودگی 24 درصد پراکنده‌شده‌اند. جهت ردیابی نپوویروس‌ها در نمونه‌های آلوده از RT-PCR استفاده شد. برای بررسی‌های مولکولی و انجام آزمون RT-PCR، total-RNA نمونه‌های برگ انگور آلوده و تعداد 20 عدد از گیاه‌های محک آلوده دارای علائم با استفاده از بافر حاوی LiCl استخراج شد. با استفاده از PCR و پرایمرهای عمومی (زیرگروه‌های A و B و C) قطعه‌ای از طول ناقص منطقه ژنتیکی عمومی مسئول بیان پروتئین پوششی نپوویروس‌ها به طول 255 جفت باز در 4 نمونه برای زیرگروه A تکثیر شد. در هیچ‌کدام از نمونه‌ها قطعه مورد انتظار از ژنوم نپوویروس‌های واقع در زیرگروه‌های B و C تکثیر نشد. با توجه به استفاده از پرایمرهای عمومی برای شناسایی سه زیرگروه نپوویروس‌ها شناسایی گونه‌های اختصاصی در این بخش از تحقیق امکان‌پذیر نبود. همچنین علائم نقش زمینه‌ای و موزاییک خفیف و رگبرگ روشنی عمومی‌ترین علائم همراه با آلودگی نپوویروس‌ها شناخته شد. همچنین مشخص شد نپوویروس‌های زیرگروه A بیشتر در تاکستان‌های تهران پراکنده‌شده‌اند و زیرگروه‌های B و C در این استان پراکنده نیستند. با توجه به اینکه زیرگروه‌های B و C در نمونه‌های این تحقیق ردیابی نشدند، بهنظر می‌رسد که درمجموع به میزان کمتری در مقایسه با زیرگروه A در انگور کاری‌های موردبررسی پراکنده‌شده باشند به این معنی که احتمال نوترکیبی بین زیرگروه و حضور گونه‌های جدید و بسیار متنوع پایین خواهد بود.

Detection of Nepovirusesinfecting grapevine in Tehran provinces

S. Sabaghian[1], F. Rakhshandehroo[1], and T. Elbeaino[2],
Department of Plant Pathology, College of Agriculture and Natural Resources, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran 14515-775, Iran; 2- 1Istituto AgronomicoMediterraneo, Via Ceglie 9, 70010 Valenzano (BA), Italy E-mail: samin.vic@gmail.com

Abstract

Grapevine shrub (Vitisvinifera) belonged to the Vitaceae family. Diseases caused by the Nepovirusesareconsider as one of the most important viral infectionsin the world. Nepoviruses has divided into three subgroups A, B and C based on the nucleotide sequences of the coat protein at the 3' end of their genome. In this study, during the growing seasons of the year 2015, a total number of 150asymptomatic and symptomatic grapevine leaf samples suspected to viral infection were randomly collected fromTehran provinces. 80 samples in depends on their symptoms Using with the polyclonal antibody direct ELISA serological method, samples tested for the presence of Nepoviruses that 32 samples had reaction with polyclonal antiserum. Results showed that, Nepovirusesincidence in samples collected

www.SID.ir

Archive of SID

from visited vineyards.Symptoms such as the line patterns, mild mosaic and vein clearing identified to be the most common symptomsassociated withtheir infections. Under greenhouse conditions, herbaceous indicator plants appeared symptoms specific for Nepovirusesupto two weeks after mechanical inoculations. Results showed that Nepoviruses distributed in Tehran provinces with infection rates of 24%, respectively. RT-PCR was done to detect and discriminate the Nepovirusesin infected grapevine samples, those that have already been positively reacted with the Nepovirus serum in ELISA. Total-RNA was isolated from the 20 samples of infected grapevine leaf samples and infected indicator plant leavesaccording to the published protocoland by LiCl buffer. Using with the degenerate primers and RT-PCR a partial sequence of coat protein gene with a size about 255bpwas amplifiedfor Nepoviruses in subgroup A in sixrepresentative samples.Results of this study showed that subgroup A of the Nepoviruses has distributed in different grapevinesvineyards in Tehranprovinces andsubgroup B and C of the Nepoviruses has not distributed in grapevines vineyards in thisprovince. In this study, because Nepoviruses belonging to the B and C subgroups were not detected from the grapevine samples, it seems likely that these subgroups of Nepoviruses have distributed lower than the Nepoviruses in subgroup A through in the surveyed vineyards. This result indicated to the low level of recombination between different subgroups of the Nepoviruseswhich may lead to the low emergence of new divergent species of Nepoviruses.

www.SID.ir