گزارش علمی کوتاه

اولین گزارش از همراهی یک فیتوپلاسما با بیماری فیلودی لوبیا چشم بلبلی در شهرستان باوی استان خوزستان

محمدحامد قدوم پاریزی‌پور[۱] و امیرغفار شهریاری[۲*]

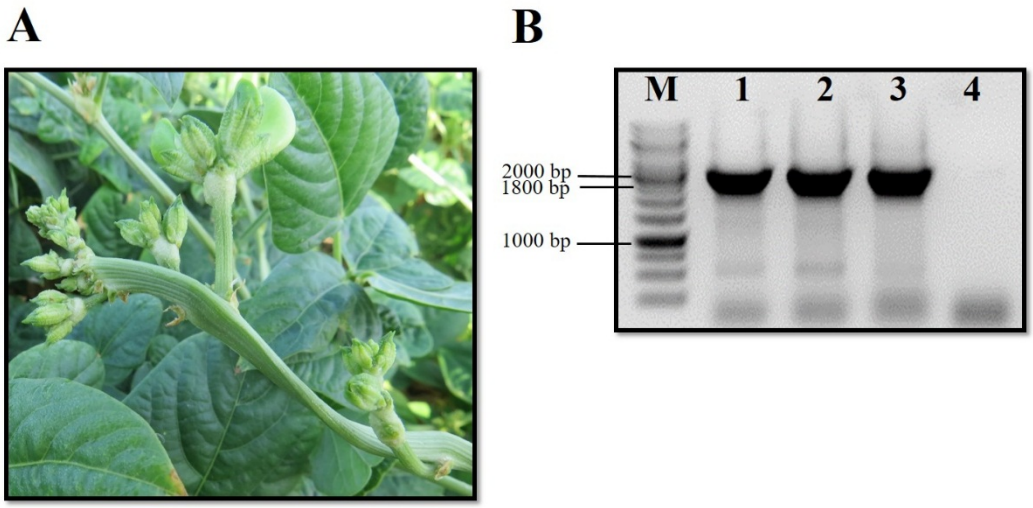
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۸/۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۰/۲۵)

فیتوپلاسماها گروه مهمی از بیمارگرهای گیاهی محدود به آوندهای آبکش هستند که در سلسله‌ی پروکاریوت‌ها و رده‌ی مالیکیوت‌ها طبقه‌بندی می‌شوند و همه ساله خسارت‌های قابل توجهی را به کشت‌های زراعی، سبزی، صیفی، زینتی و درختستان‌ها وارد می‌کنند (Bertaccini *et al.* 2014). در بازدیدهای سال‌های ۹۷-۱۳۹۶ از مزارع لوبیا چشم بلبلی در شهرستان باوی استان خوزستان، بیماری فیلودی لوبیا چشم بلبلی مشاهده گردید. علایم بارز این بیماری عبارت بود از فیلودی، ریزبرگی و کتابی شدن ساقه (شکل ۱-A). دی‌اِن‌اِی کل از ۳۴ نمونه‌ی گیاهی دارای علایم و ۱۲ گیاه سالم استخراج گردید. جهت ردیابی فیتوپلاسما در نمونه‌های دی‌اِن‌اِ از آزمون پی‌سی‌آر مستقیم با استفاده از جفت آغازگر P1/P7 (Deng & Hiruki 1991) و آزمون پی‌سی‌آر آشیانه‌ای با استفاده از جفت آغازگر R16F2n/R16FR2 (Gundersen & Lee 1996) استفاده شد و به ترتیب قطعات مورد انتظارِ ۱۸۳۰ و ۱۲۴۰ جفت‌بازی، تکثیر گردید (شکل ۱-B). جداسازی، خالص‌سازی و تعیین ترادف قطعه‌ی ۱۸۳۰ جفت‌بازی متعلق به نمونه‌ی جمع‌آوری شده از شهرستان باوی انجام گرفت. واکاوی نوکلئوتیدی در پایگاه داده‌ی NCBI و با کمک نرم‌افزار BLAST نشان داد که ترادف بدست آمده در این پژوهش دارای بیشترین تشابه نوکلئوتیدی (۹۹٪) با فیتوپلاسمای عامل فیلودی لوبیا چشم بلبلی در استان آذربایجان شرقی (KC633094) و همچنین فیتوپلاسماهای Vinca virescence (AY500817)، Columbia Basin potato purple top (AY692279) و *Candidatus* Phytoplasma trifolii (KX773529) بود. به علاوه، تشابه نوکلئوتیدی ۹۹ درصدی با ۱۴ فیتوپلاسمای گزارش شده از ایران نظیر فیتوپلاسمای کدو (KP119494)، فیلودی خیار (JF508516) و تورم جوانه‌ی گوجه‌فرنگی (JF508512) مشاهده گردید. ترادف تقریباً کامل آرانِ‌ای ریبوزومی 16S از فیتوپلاسمای فیلودی لوبیا چشم بلبلی باوی، تحت رس‌شمار MK088178 در بانک جهانی ترادف‌ها ثبت گردید. این اولین گزارش از همراهی یک فیتوپلاسما با بیماری فیلودی لوبیا چشم بلبلی در استان خوزستان می‌باشد. اخیراً در بوته‌های لوبیا چشم بلبلی با علایم

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: shahriari.ag@eghlid.ac.ir

۱. استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان.

۲. استادیار گروه کشاورزی و منابع طبیعی، مرکز آموزش عالی اقلید.



شکل ۱. علایم فیلودی و کتابی شدن ساقه در گیاه لوبیا چشم بلبلی در یکی از مزارع شهرستان باوی، استان خوزستان (A)؛ الکتروفورز محصول‌های پی‌سی‌آر با آغازگرهای P1/P7 (B) در ژل آگارز یک درصد و تکثیر قطعه‌ی ۱۸۳۰ جفت‌بازی در نمونه‌های جمع‌آوری شده از شهرستان‌های اهواز، دزفول و باوی (به ترتیب راهک‌های ۱، ۲ و ۳) به همراه نمونه شاهد (گیاه سالم، راهک ٤)، M، نشانگر ۲۰۰ جفت-بازی (Thermo Fisher Scientific).

Fig. 1. Phyllody and stem fasciation in a cowpea plant from a field in Bavi county, Khuzestan province (A); Electrophoresis patterns of PCR products using universal P1/P7 primers (C) in 1% agarose gel and the amplified fragment of 1830 bp in samples collected from Ahvaz, Dezful and Bavi counties (lanes 1, 2 and 3, respectively) as well as control (healthy plant, lane 1), M: 200 bp DNA ladder (Thermo Fisher Scientific).

فیلودی، ریزبرگی و کتابی شدن ساقه در استان آذربایجان شرقی، یک فیتوپلاسما ردیابی شده است که بیشترین نزدیکی را به اعضای گروه افژولش شبدر (Clover proliferation group, 16SrVI) دارد (Gharouni Kardani & Jamshidi 2018). به نظر می‌رسد که وجود این فیتوپلاسما تهدیدی برای گیاهان زراعی در این استان خواهد بود. علایم فیلودی، ریزبرگی و کتابی شدن ساقه‌ی لوبیا چشم بلبلی در مزارع شهرستان‌های اهواز و دزفول نیز مشاهده گردید و شناسایی فیتوپلاسمای همراه با این علایم، در دست بررسی است.

کلیدواژه‌ها: استان خوزستان، فیتوپلاسما، لوبیا چشم بلبلی.

First report on the association of a phytoplasma with cowpea phyllody disease in Bavi county, Khuzestan province

M. H. Ghodoum Parizipour[1] and A. Gh. Shahriari[2*]

(Received: 28.10.2018; Accepted: 15.1.2019)

Phytolasmas are important phloem-restricted plant pathogens which are classified into prokaryotes kingdom and mollicutes class and annually cause considerable loss to crops, ornamentals and trees (Bertaccini *et al.* 2014). During 2017-18, cowpea fields of Bavi county in Khuzestan province were inspected and cowpea phyllody disease was observed. The clear symptoms of the disease included phyllody, leaf size reduction and stem fasciation (Fig. 1-A). Total DNA was extracted from 34 symptomatic plant samples and 12 healthy plants. In order to detect phytoplasma in DNA samples, direct PCR using P1/P7 primer pair (Deng & Hiruki 1991) and nested PCR using R16F2n/R16FR2 primer pair (Gundersen & Lee 1996) were used and expected fragments of 1830 and 1240 bp were amplified, respectively (Fig. 1-B). The large fragment belonging to the sample collected from Bavi county was isolated, purified and sequenced. Nucleotide analysis of the obtained sequence in NCBI using BLAST software showed the highest (99%) identity to the phytoplasma associated with cowpea phyllody in West Azarbaijan province (KC633094), Vinca virescence (AY500817), Columbia Basin potato purple top (AY692279) and *Candidatus* Phytoplasma trifolii (KX773529). Additionally, 99% identity to 14 phytoplasmas reported from Iran such as *Cucurbita pepo* (KP119494), cucumber phyllody (JF508516) and tomato big bud (JF508512) was observed. The nearly complete sequence of 16SrRNA of cowpea phyllody phytoplasma was deposited in GenBank under the accession number of MK088178. This is the first report on the association of a phytoplasma with cowpea phyllody disease in Khuzestan province. Recently, a phytoplasma has been detected among cowpea plants with symptoms including phyllody, leaf size reduction and stem fasciation in West Azarbaijan province which showed highest similarity to clover proliferation group (16SrVI) (Gharouni Kardani & Jamshidi 2018). It seems that the presence of phytoplasma in this province is a real threat to cultivated crops. Symptoms of phyllody, leaf size reduction and stem fasciation were also found in cowpea fields of Ahvaz and Dezful counties and identification of the phytoplasma associated with these symptoms is under investigation.

Keywords: cowpea, Khuzestan province, phytoplasma.

* Corresponding author's email: shahriari.ag@eghlid.ac.ir

1. Department of Plant Protection, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.
2. Department of Agriculture and Natural Resources, Higher Education Center of Eghlid, Eghlid, Iran.

منابع

Bertaccini A., Duduk B., Paltrinieri S. and Contaldo N. 2014. Phytoplasmas and phytoplasma diseases: a severe threat to agriculture. American Journal of Plant Science 5:1763-1788.

Deng S. and Hiruki C. 1991. Amplification of 16S rRNA genes from culturable and non-culturable mollicutes. Journal of Microbiological Methods 14: 53–61.

Gharouni Kardani S. and Jamshidi A. 2018. Etiology and transmission of phytoplasma associated with cowpea phyllody in West Azarbaijan province. Journal of Plant Protection 32: 185-193 (in Persian).

Gundersen D. E. and Lee I. M. 1996. Ultrasensitive detection of phytoplasmas by nested-PCR assays using two universal primer sets. Phytopathologia Mediterranea 35:144–151.