

اولین گزارش از همراهی یک فیتوپلازما از زیرگروه D گروه 16SrII با بیماری برگ سفید نیشکر در ایران

محمد صالحی^۱، سید علیرضا اسمعیل زاده حسینی^۲ و الهام صالحی^۱

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۶/۱۴؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۱۶)

نیشکر (*Saccharum officinarum* L.) یکی از مهم‌ترین محصولات زراعی در ایران است. طی بازدیدهای سال ۱۳۹۶، نشانه‌های بیماری برگ سفید نیشکر شامل برگ سفیدی، نازکی و شکنندگی برگ‌ها، تولید پاجوش‌های بیش از اندازه، کوتولگی و مرگ گیاه (شکل ۱) در مزارع هفت تپه خوزستان مشاهده شد. از رگبرگ میانی چهارنمونه نیشکر دارای و چهار نمونه نیشکر فاقد نشانه‌های بیماری برگ سفید با روش ژانگ و همکاران (Zhang et al. 1998) دی.ان.ای کل استخراج گردید. در آزمون پی سی آر دو مرحله‌ای با استفاده از جفت آغازگرهای P1/P7 و R16F2n/R16R2 (Lee et al. 1998) وجود فیتوپلازما در نمونه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. قطعات مورد انتظار به ترتیب با اندازه‌های تقریبی ۱/۸ و ۱/۲ کیلو جفت باز فقط در نمونه‌های گیاهان دارای نشانه‌های بیماری تکثیر شد. محصول‌های پی سی آر مرحله دوم مربوط به چهار نمونه دارای نشانه‌های برگ سفیدی همسانه‌سازی و تعیین توالی شد. توالی‌های به دست آمده کاملاً یکسان بودند و یک نماینده از آنها تحت رس شمار MF356603 در بانک جهانی ترادف‌ها قرار داده شد. جستجوی بلاست نشان داد که توالی فیتوپلاسمای همراه با بیماری برگ سفید نیشکر هفت تپه ۱۰۰ درصد با فیتوپلاسمای جاروک جعفری (*Petroselinum crispum*) (KU501295)، استرینی از زیرگروه D گروه 16SrII (Salehi et al. 2016) شباهت دارد. آنالیز آر اف ال پی مجازی با استفاده از نرم افزار آنالیز iPhyClassifier نشان داد که نقوش آر اف ال پی فیتوپلاسمای برگ سفید نیشکر هفت تپه با ضریب تشابه ۱ با الگوی نماینده زیر گروه D گروه 16SrII (Y10097) مشابه بود. آنالیز فیلوژنتیکی با استفاده از نرم افزار مگا ۷ نشان داد فیتوپلاسمای برگ سفید نیشکر هفت تپه در گروه 16SrII نزدیک به استرین رفرنس زیرگروه D (Y10097) قرار دارد. بر اساس اطلاعات نگارندگان این اولین گزارش از همراهی یک فیتوپلازما از زیر گروه D گروه 16SrII با بیماری برگ سفید نیشکر در ایران می‌باشد.

کلید واژگان: بیماری‌های نیشکر، واکنش زنجیره‌های پلیمرز، آر اف ال پی مجازی، خوزستان

*** مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: salehi_abarkoohi@yahoo.com

۱- بخش تحقیقات گیاه پزشکی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران

۲- بخش تحقیقات گیاه پزشکی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، یزد، ایران

First report of association of a 16SrII-D *phytoplasma* with sugarcane white leaf disease in Iran

M. Salehi¹, S.A. Esmailzadeh-Hosseini² and E. Salehi¹

(Received: 05.09.2018; Accepted: 05.02.2019)

Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) is an important crop in Iran. During 2016 surveys, sugarcane white leaf (SCWL) disease was observed in sugarcane fields of Haft Tapeh area (Khuzestan province, Iran). The characteristic symptoms of the disease were white leaf, thin and brittle leaves, excessive tiling, stunting and death of the plant (Fig. 1). Total DNA was extracted from four symptomatic and four symptomless sugarcane plants using Zhang *et al.* procedure (1998). For phytoplasma detection, the extracted DNAs were tested by nested PCR using the universal primer pair P1/P7 followed by the universal primer pair R16F2n/R16R2 (Lee *et al.*, 1998). Amplicons of *ca.* 1.8 and 1.2 kbp, respectively, were amplified in samples of symptomatic plants but not of symptomless ones. Four R16F2n/R16R2 amplicons from symptomatic sugarcane plants were cloned and sequenced. The obtained sequences showed 100% identity with each other and a representative of these sequences deposited in GenBank (Accession No. MF356603). BLAST search revealed that Haft Tapeh SCWL (HTSCWL) sequence showed 100% identity with *Petroselinum crispum* witches' broom phytoplasma strain (KU501295), representative of 16SrII-D subgroup (Salehi *et al.* 2016). Computer-simulated restriction analysis using *iPhyClassifier* showed that the RFLP profile of HTSCWL 16S rDNA F2nR2 fragment was identical (similarity coefficient 1.00) to the reference pattern of 16SrII-D subgroup (Y10097). Phylogenetic analysis using Mega 7.0 revealed that HTSCWL phytoplasma clustered with 16SrII group phytoplasmas closest to 16SrII-D subgroup reference strain (Y10097). To our knowledge this is the first report of a 16SrII-D phytoplasma associated with SCWL disease in Iran.

Key words: Khuzestan, PCR, Sugarcane diseases, Virtual RFLP

** Corresponding author's E-mail: salehi_abarkoohi@yahoo.com

1. Plant Protection Research Department, Fars Agricultural and Natural Resources Research and Education Centre, AREEO, Zarghan, Iran

2. Plant Protection Research Department, Yazd Agricultural and Natural Resources Research and Education Centre, AREEO, Yazd, Iran



شکل ۱. نشانه های بیماری برگ سفید نیشکر در هفت تپه (استان خوزستان) شامل برگ سفیدی، نازکی و شکنندگی برگ، تشکیل پاجوش های بیش از اندازه و کوتولگی .

Fig 1. .Symptoms of Haft Tapeh (Khuzestan province) sugarcane white leaf disease including white leaf, thin and brittle leaves, excessive tiling and stunting.

References

- Lee I.-M., Gundersen-Rindal D.E., Davis R.E., Bartoszyk, I.M., 1998. Revised classification scheme of phytoplasmas based on RFLP analyses of 16S rRNA and ribosomal protein gene sequences. *International Journal of Systematic Bacteriology* 48: 1153-1169.
- Salehi M., Esmailzadeh Hosseini SA., Salehi E, Bertaccini A. 2016. Occurrence and characterization of a 16SrII-D subgroup phytoplasma associated with parsley witches' broom disease in Iran. *Journal of Phytopathology* 164:996-1002.
- Zhang Y., Uyemoto J. K. and Kirpatrick B. C. 1998. A small-scale procedure for extracting nucleic acids from woody plants infected with various phytopathogens for PCR assay. *Journal of Virological Methods* 71:45-50.