

Healthy  
Plant  
Healthy  
Planet



سازمان  
کشاورزی  
و دامپروری  
ایران

# 20<sup>th</sup> Iranian Plant Protection Congress

26-29 August 2012, Shiraz University

بیستمین  
کنگره‌ی  
گیاه‌پزشکی  
ایران

۴-۷ شهریور ۱۳۹۱، دانشگاه شیراز



## شناسائی فیتوپلاسمای همراه با فیلودی گل اشرفی

مهناز آشنائی، محمد زکی عقل و سارا قارونی کاردانی

گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد [m.ashnayi64@gmail.com](mailto:m.ashnayi64@gmail.com)

گیاه گل اشرفی (*Cosmos sulphureus*) از خانواده Asteraceae به عنوان گیاه زینتی در فضای سبز بکار برده می‌شود. در فضای سبز شهر مشهد در اغلب موارد، عارضه فیلودی در گل اشرفی مشاهده می‌گردد. علائم بیماری عبارتند از زردی، ریزبرگی، ارغوانی شدن رگبرگ های زیرین، فیلودی و کوتولگی گیاه. بمنظور شناسائی عامل بیماری از رگبرگ گیاهان دارای علائم دی. ان. ای کل با استفاده از بافر CTAB استخراج شد و از نظر آلودگی به فیتوپلاسم در واکنش زنجیره ای پلی مراز با استفاده از آغازگرهای عمومی P1/P7 و آغازگرهای آشیانه ای R16F2n/ R16R2 بررسی شدند. سپس محصول PCR با استفاده از کیت PCR Product Cloning Kit Ins T/Aclone™ در پلاسمید pTZ57R/T الحاق و در سویه *Escherichia coli* DH5α همسانه سازی و تعیین ترادف گردید. تکثیر قطعاتی با اندازه تقریبی ۱۸۰۰ و ۱۲۰۰ جفت باز از نمونه های دارای علائم و فقدان آنها در نمونه سالم نشان دهنده آلودگی گیاهان مورد بررسی به فیتوپلاسم بود. جستجوی BLAST نشان داد که ترادف بدست آمده بیشترین شباهت را با *Periwinkle virescence phytoplasma* که متعلق به گروه 16Sr IX است، دارا می‌باشد. همچنین در آنالیز تبارزائی، فیتو پلاسمای همراه با فیلودی گل اشرفی، با اعضای گروه جاروک نخود کیوتر 'Pigeon pea witches'-broom, 16Sr IX group در یک گروه قرار گرفت.

Identification of a phytoplasma associated with *Cosmos sulphureus* phyllody

M. Ashnavi, M. Zakiaghl and S. Gharouni Kardani

Department of Plant Protection, Collage of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad [m.ashnayi64@gmail.com](mailto:m.ashnayi64@gmail.com)

*Cosmos sulphureus* (Asteraceae) is an ornamental plant used for landscape. In most cases, *Cosmos sulphureus* is associated with phyllody symptoms in Mashhad. Symptoms of disorder are yellowing, little leaves, purple discoloration in leaf veins, phyllody and stunting. In order to identify casual agent of the disorder, total DNA was extracted from veins of symptomatic leaves using CTAB buffer (Zhang *et al.*, 1998). Polymerase chain reaction carried on using universal phytoplasma primer pairs (P1/P7) and nested primer pairs (R16F2n/ R16R2). PCR products were ligated into pTZ57R/T plasmid using T/Aclone™ PCR Product Cloning Kit as manufacturer protocol, transformed into DH5α strain of *Escherichia coli* and sequenced. Amplification of 1800 and 1200 bp fragments in PCR confirmed the presence of a phytoplasma in symptomatic plants. No band was amplified from healthy control. Blast analyses showed that casual agent of *Cosmos sulphureus* phyllody have maximum identity to *Periwinkle virescence phytoplasma* which belongs to 16SrIX groups of phytoplasma. In phylogenetic analysis phytoplasma associated with *Cosmos sulphureus* phyllody was clustered in Pigeon pea witches'-broom, 16Sr IX group.