

ردیابی و شناسایی بیماری فیتوپلاسمایی در گیاه زینتی کنوکارپوس ارکتوس در خوزستان

محمد عظیمی^{۱*}، رضا فرخی نژاد^۲ عطیه بهاری^۳، مهدی مهربانی کوشکی^۴

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیماری شناسی، دانشگاه شهید چمران اهواز ۲- استاد گروه بیماری شناسی، دانشگاه شهید چمران اهواز ۳- دانشجوی کارشناسی ارشد بیماری شناسی، دانشگاه تربیت مدرس ۴- استادیار گروه بیماری شناسی، دانشگاه شهید چمران اهواز.

*نویسنده مسئول: azimi.ac.ir@gmail.com

چکیده

در سال‌های اخیر گیاه کنوکارپوس با نام علمی *Conocarpus erectus* در زیباسازی فضای سبز شهری اغلب شهرستان‌های استان‌های جنوبی کشور اهمیت ویژه‌ای یافته‌است. علایم مشکوک به عوامل بیماری‌زای فیتوپلاسمایی شامل ریزبرگی یک طرفه، کتابی شدن ساقه، سبزی بیش از حد برگ (ویرسینس) و ترشح شیره گیاهی از روزنه‌های جانبی برگ روی تعدادی از این درختان در شهر اهواز مشاهده شد، بنابراین مطالعه‌ای به منظور ردیابی و بررسی ویژگی‌های بیماری (های) فیتوپلاسمایی روی این گیاه زینتی در استان خوزستان طراحی گردید. طی سال‌های ۹۴-۱۳۹۳ در بازدیدهایی که از درختان و درختچه‌های کنوکارپوس فضای سبز دانشگاه شهید چمران اهواز انجام گرفت، مجموعاً ۲۴ نمونه گیاهی دارای علایم مشکوک به بیماری‌های فیتوپلاسمایی جمع‌آوری گردید. استخراج DNA با استفاده از روش تغییر یافته ژانگ و همکاران انجام شد. نتایج واکنش زنجیره‌ای پلیمرز مستقیم و آشیانه‌ای با استفاده از آغازگرهای P1/P7 و R16F2n/R16R2، آلودگی قطعی فیتوپلاسمایی را در این گیاهان ثابت کرد. همچنین با توجه به اطلاعات موجود این اولین گزارش از بروز بیماری فیتوپلاسمایی در گیاه کنوکارپوس ارکتوس می‌باشد.

کلمات کلیدی: فیتوپلاسم، کنوکارپوس ارکتوس

مقدمه

کنوکارپوس درختی همیشه سبز است که معمولاً در مناطق گرمسیر و خاک‌های شور کاشته می‌شود. نام علمی آن کنوکارپوس ارکتوس (*Conocarpus erectus*) از خانواده بادام هندی (*Anacardium occidentale*) و بومی فلوریدای آمریکاست. رشد این گیاه در زمستان کمتر از تابستان است و اگر در تابستان از نظر آب مشکلی نداشته باشد رشد چشمگیری خواهد داشت. این گیاه در کشورهای حوزه خلیج فارس همچون عربستان سعودی، ایران و عراق که مناطق گرم و خشک و معمولاً خاک شور دارند کشت می‌شود. علاوه بر این در سواحل کالیفرنیا، فلوریدا، آفریقای جنوبی و برزیل نیز دیده می‌شود. از جمله استان‌های ایران که این درخت در آنها کاشته می‌شود می‌توان به خوزستان، بوشهر و هرمزگان اشاره نمود. در دهه ۱۳۴۰ گونه کنوکارپوس (ارکتوس کُند رشد) توسط امریکایی‌ها وارد شهرستان بندرعباس شد و در سال‌های اخیر یکی از شهروندان اهوازی برای اولین بار گونه اصلاح شده و سریع‌الرشد آن را وارد شهر اهواز نموده است (سیاسی نژاد، ۱۳۹۲).

کاشت گیاه با سیستم تک‌کشتی در سطح وسیع، آن را مستعد بروز بیماری و آفات کرده است به طوری که روند بروز علائم محسوس می‌باشد. لذا با توجه به علائمی نظیر ریز برگ، کتابی شدن ساقه، ویرسینس و ترشح عسلک از حاشیه جانبی برگ‌های بدشکل این فرضیه مطرح شد که علایم می‌تواند منشأ فیتوپلاسمایی داشته باشد. این پژوهش با هدف ردیابی فیتوپلاسمای احتمالی عامل این بیماری صورت گرفت.

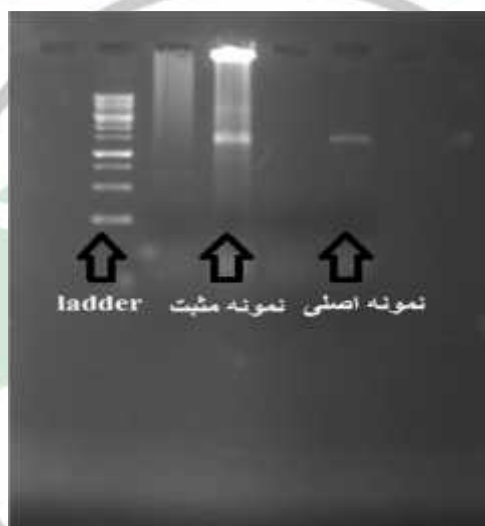
مواد و روش‌ها

طی سال‌های ۹۳-۱۳۹۴ در بازدید از درختان و درختچه‌های کنوکارپوس واقع در فضای سبز محوطه دانشگاه شهید چمران اهواز تعداد ۲۴ نمونه گیاه حاوی علائم بیماری فیتوپلاسمایی جمع‌آوری گردید. نمونه‌برداری از بافت‌های دارای علائم نظیر ساقه و

برگ انجام شد. نمونه‌ها به صورت مجزا در کیسه‌های پلاستیکی در شرایط مناسب به آزمایشگاه انتقال داده شدند. استخراج DNA کل بر اساس روش تغییر یافته ژانگ و همکاران (۱۹۹۸) با استفاده از بافر CTAB از رگبرگ‌های میانی گیاه کنوکارپوس و یک گونه از مرکبات آلوده به عوامل فیتوپلاسمایی به عنوان نمونه مثبت، صورت گرفت. از این DNA در واکنش زنجیره پلیمرز استفاده گردید. در این واکنش از دو آغازگر P1 (Deng et al. 1991) و P7 (Schneider et al. 1995) در مرحله اول PCR و از آغازگرهای عمومی R16F2n/R16R2 (Lee et al. 1998) مبتنی بر ترادف ژن ۱۶ اس آر ان ای ریبوزومی عامل احتمالی، در مرحله دوم (Nested PCR) جهت تکثیر دی ان ای فیتوپلاسمایی استفاده شد.

نتایج و بحث

با توجه به عدم وجود گزارش عامل فیتوپلاسمایی بر روی این گیاه و مشاهده‌ی علائم تپیک نزدیک به این میکروارگانیسم‌ها، محتوای DNA کل برگ استخراج و پس از تکثیر بخش‌های محافظت شده ۱۶ اس آر ان ای ریبوزومی، محصول نهایی جهت مشاهده‌ی قطعات تکثیری بر روی ژل آگارز بارگذاری و نتایج زیر براساس شکل ۱ حاصل شد.



شکل ۱- قطعات تکثیری حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز آشیانه‌ای

با توجه به شکل ۱، نمونه مثبت در مرحله PCR اولیه و نمونه اصلی در مرحله PCR آشیانه‌ای در بازه‌ی حدودی ۱۲۰۰ جفت باز تکثیر گردیدند. در پژوهشی مشابه، رعیت پناه و الداغی (۱۳۹۳) گیاهان تاج‌خروس، گل جعفری و گل رز را در استان مازندران مورد مطالعه قرار دادند. نتایج واکنش PCR مستقیم و آشیانه‌ای، آلودگی قطعی فیتوپلاسمایی را در این گیاهان ثابت کرد و تعیین توالی قطعه تکثیری در واکنش PCR آشیانه‌ای و مقایسه آن با اطلاعات و توالی‌های ژنومی موجود در بانک‌های اطلاعاتی (GenBank) نشان داد که توالی فیتوپلاسمای ردیابی شده در تاج‌خروس، گل جعفری و گل رز دارای همولوژی بالا با فیتوپلاسمای گروه 16SrI و به ترتیب با زیرگروه‌های 16SrI-M، 16SrI-B و 16SrI-B می‌باشد.

لی و همکاران (۲۰۱۰) در پژوهش خود بر روی زرشک قرمز (تزیینی) *Berberis thunbergii atropurpurea* علائم فیلودی را از شمال غرب چین گزارش کردند. براساس نتایج حاصل از PCR و هضم قطعات برشی، عامل فیتوپلاسمایی جز زیر گروه 16SrV-B بود. نتایج حاصله و مقایسات صورت گرفته روی منابع مورد بررسی حاکی از آن است که علائم مشاهده شده روی گیاه کنوکارپوس به قطع یقین منشاء فیتوپلاسمایی دارد. این اولین گزارش از وجود بیماری فیتوپلاسمایی بر روی این گیاه می‌باشد.

منابع

- ۱- رعیت پناه، س.، الداغی، م. ۱۳۹۳. ردیابی و شناسایی بیماری های فیتوپلاسمایی گیاهان زینتی ، آپارتمانی (گلدانی) و شاخه بریده در استان مازندران. بیست و یکمین کنگره گیاه پزشکی ایران. دانشگاه ارومیه. صفحه ۲۵۹
- ۲- سیاسی نژاد، م. ۱۳۹۲. کنوکارپوس معجزه ای در فضای سبز جنوب ایران. اتحاد خیر.
<http://www.ettehadkhabar.ir/fa/posts/24226>

- 3- Deng, S., & Hiruki, C. (1991). Amplification of 16S rRNA genes from culturable and nonculturable mollicutes. *Journal of microbiological methods*, 14(1), 53-61.
- 4- 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(4), 1153-1169.
- 5- Li, Z. N., Zhang, L., Bai, Y. B., Liu, P., & Wu, Y. F. (2012). Detection and identification of the elm yellows group phytoplasma associated with Puna chicory flat stem in China. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 34(1), 34-41.
- 6- Schneider, B., Seemueller, E., Smart, C. D., & Kirkpatrick, B. C. (1995). Phylogenetic classification of plant pathogenic mycoplasma-like organisms or phytoplasmas. *Molecular and diagnostic procedures in mycoplasmaology*, 1(369), 79.

Detection and Identification of Phytoplasmas diseases of ornamental plant *Conocarpus erectus* in Khuzestan province.

M. Azimi^{1*}, R. Farokhinejad², A. Bahari³, M. Mehrabi-Koushki⁴

- 1-Ms.C.Student, Department of Plant Pathology, College of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz
2- Professor Department of Plant Protection, College of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz
3- Ms.C.Student, Department of Plant Pathology, College of Agriculture, Tarbiat Modares University of Tehran
4- Assistant Professor of Plant Pathology, Plant Protection Department, Shahid Chamran University of Ahvaz

*Corresponding author: azimi.ac.ir@gmail.com

Abstract

in recent years, *conocarpus* (*C. erectus*) has been used extensively in landscaping in most cities in southern and southwest provinces in Iran. it is used as hedge, or for median strip plantings in the highway, residential street tree, shade tree in the park, etc. Recently, doubtful symptoms like those caused by phytoplasmas including phyllody, stem fasciation, virescence, and the appearance of droplets of plant exudates on the leaf edge were observed on the plants in Shahid Chamran University campus. So, study was conducted to detect and investigate about the ordinary symptoms of the plants. Collectively, 24 samples of infected trees were collected during the the year of 2015. DNA extraction was done using Zhang and colleagues. Results of the direct and nested PCR using P1/P7 and R16F2n/R16R2 proved phytoplasmas contamination of the plants. Based on the available informations, this is the first report of the occurrence of a such disease on the *conocarpus* plants in the world.

Key words: Phytoplasma, *conocarpus erectus*