

بررسی مقاومت لیموترش (مکزیکن لایم) بر روی پایه های تجارتي و دورگه های طبیعی لایم نسبت به بیماری جاروک لیمو ترشحمید رضا بهرامی^۱، ابراهیم لطیفی خواه^۲، محسن پیرمردیان^۳

۲- دانشجوی دکترای علوم باغبانی دانشگاه شیراز. ۱ و ۳- اعضای هیأت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان.

*نویسنده مسئول

چکیده

انتخاب بهترین ترکیب پایه و پیوندک برای لیمو ترش (مکزیکن لایم) که در منطقه سازگار و دارای خصوصیات مطلوب کمی و کیفی باشد و نسبت به بیماری فیتوپلاسمایی مقاومت نشان دهد از الویت های تحقیقات در زمینه لیمو ترش می باشد. بدین منظور آزمایشی بر روی پایه های مختلف مرکبات و دورگه های طبیعی لیمو ترش به عنوان پایه (مکزیکن لایم) به مدت چهار سال، از سال ۱۳۸۵ در ایستگاه تحقیقات کشاورزی میناب به مرحله اجرا در آمد. این آزمایش بر روی ۱۲ رقم پایه تجارتي، ۱۹ نمونه ارقام ترش شمال کشور و ۴۱ بیوتیپ لایم جمع آوری شده از استان هرمزگان انجام گرفت که بعد از تکثیر، با پیوندک سالم مکزیکن لایم پیوند شده و در نهایت با استفاده از پیوندک آلوده به جاروک، مایه کوبی انجام پذیرفت و هر سه ماه یک بار از کلیه اندامهای گیاهی با استفاده از آغاز گره های اختصاصی فیتوپلاسمایی عامل جاروک لیمو ترش، از طریق واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) مورد آزمایش قرار گرفت، نتایج نشان داد حرکت فیتو پلازما در تمام اندامهای گیاهی به راحتی صورت می گیرد و بر اساس نتایج هیچکدام از پایه های استفاده شده نتوانست از حرکت فیتوپلازما جلوگیری کند و در نهایت کلیه اندامهای گیاهی بر روی پایه های مختلف به بیماری جاروک دچار شدند و پایه تاثیری در مهار بیماری جاروک ندارد.

کلمات کلیدی: پایه، مکزیکن لایم، جاروک، پایه و پیوندک، فیتوپلازما

مقدمه

متأسفانه در سالهای اخیر بیماری جاروی جادوگر یا جاروک لیموترش (*Disease of Lime Witche's Broom*) سبب نابودی بسیاری از باغهای استان هرمزگان شده است. این بیماری در سال ۱۹۸۶ برای اولین بار از کشور عمان و در سال ۱۹۸۹ از امارات متحده عربی و برخی از کشورهای همجوار آن گزارش گردید و به سرعت موجب نابودی سطح وسیعی از باغهای لیموترش در مناطق شمالی این کشور شد. در ایران از سال ۱۳۷۶ در باغهای استان سیستان و بلوچستان (نیک شهر) و در سال ۱۳۷۷ از استان هرمزگان شهرستان میناب و استان کرمان شهرستانهای جیرفت و کهنوج گزارش شده است. براساس گزارشات فائو در سال ۱۹۹۴-۱۹۹۳ آلودگی بالای ۵ درصد بوده و تا سال ۱۹۹۶ این میزان تقریباً تا ۱۰۰ درصد افزایش یافته است. تاکنون وجود این بیماری در سایر نقاط دنیا به اثبات نرسیده است اما قابل انتقال در کلیه مناطق مساعد کشت لیموترش می باشد. عامل این بیماری یک فیتوپلازما به نام *CandidatusPhytoplasmaaurantifolia* است که در آوند آبکش درختان آلوده قرار گرفته و از آنجا به سایر قسمت های گیاه منتقل می شود. در سال ۱۹۸۸ بررسیها با میکروسکوپ الکترونی نشان داد که عامل بیماری جاروک لیموترش ماهیت فیتوپلاسمایی (شبه میکوپلاسمایی) دارد (Bove و همکاران، ۱۹۸۸).

مواد و روشها

این پژوهش به مدت چهار سال در باغ کلکسیون ایستگاه تحقیقات کشاورزی میناب به اجرا در آمد. در نتیجه اجرای طرح بررسی صفات مورفولوژیک دورگه های لایم استان هرمزگان توسط نگارنده ۴۱ بیوتیپ در ۵ منطقه میناب، رودان، هشت بندی، سندرک و جغین شناسایی و کدگذاری شده است. این بیوتیپ ها شناسایی و به ترتیب با شماره ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ کدگذاری شدند. در بخش مرکزی میناب ۱۶ بیوتیپ، رودان ۱۱ بیوتیپ، هشت بندی ۵ بیوتیپ، سندرک ۶ بیوتیپ و جغین ۳ بیوتیپ شناسایی شد. چون در این آزمایش علاوه بر بررسی مقاومت بیوتیپ های لایم نسبت به بیماری جاروک لیموترش، پایه های تجارتي هم مورد ارزیابی

قرار می‌گیرد، پایه‌های تجارتي مرکبات کشت شده در این طرح عبارتند از: لیموآستارایی، نارنج، بکرایی، رانگ پورلایم، ترنج، ماکروفیلا، ولکامریانا، کلثوپاترا، گریپ فروت، تایوانیکا، رافلمون و لیسبون لمون که جهت تهیه بذر پایه‌های تجارتي ذکر شده از ایستگاه صفی آباد دزفول (رانگ پور لایم)، ایستگاه تحقیقات کشاورزی جهرم (بکرایی)، ایستگاه تحقیقات کشاورزی حاجی آباد (لیمو آستارایی و ولکامریانا) و بقیه از موسسه تحقیقات مرکبات کشور تهیه گردید و هم‌زمان با بیوتیپ‌های طبیعی در تاریخ ۸۵/۸/۳ در شاسی کشت گردیدند به منظور بررسی بر روی ارقام ترش مرکبات شمال کشور، توسط موسسه تحقیقات مرکبات، ۳۲ نمونه از ارقام فوق ارسال گردید که این نمونه‌ها در تاریخ ۸۵/۱۲/۲۲ در شاسی کشت گردیدند. که در نهایت بذر ۱۹ نمونه از ارقام ترش شمال کشور سبز شد و جهت استفاده در طرح استفاده گردید، در این آزمایش ابتدا بذور همه دورگه‌های موجود در استان شامل ۴۱ بیوتیپ از ارقام ترش (لایم و لمون) و ۱۲ رقم پایه تجارتي مرکبات ذکر شده و در نهایت ۱۹ نمونه از ارقام ترش شمال کشور از ایستگاه کترا جمع‌آوری شده و پس از ضد عفونی با یک قارچ کش بطور جداگانه در شاسی کشت گردید و کلیه مراقبتهای لازم از آن صورت گرفت. بقیه بیوتیپ‌ها که فاقد بذر بودند یا اینکه در زمان مراجعه میوه نداشتند، پس از تهیه قلمه در تاریخ ۸۵/۱۱/۱ با هورمون ایندول بوتیریک اسید (*IBA*) با غلظت ۳۰۰۰ میلی گرم در لیتر تیمار شده و در شرایط مست کشت گردیدند و کلیه مراقبتهای لازم جهت نگهداری آنها صورت گرفت سپس برای هر رقم به تعداد ده اصله در گلدان یا در زمین کشت شد، در سال دوم آزمایش نهالهای یکساله با پیوندک سالم لیمو ترش (مکزیکن لایم) پیوند شدند و نهالهای پیوندی به مدت یک سال نگهداری گردید در سال سوم آزمایش کلیه نهالها را به روش جانبی با پیوندک آلوده به جاروک لیمو ترش مایه زنی شدند و به مدت یکسال در محیط آزاد نگهداری شدند. کلیه عملیات داشت شامل: آبیاری انجام پیوند، کوددهی و ... برای همه تیمارها یکسان صورت پذیرفت. بعد از مدت زمان تعیین شده بررسی و ارزیابی مقاومت ارقام به بیماری به صورت ظاهری و یا با استفاده از آغازگرهای اختصاصی فیتوپلاسمای عامل جاروک لیمو ترش، از طریق واکنش زنجیره ای پلیمرز (*PCR*) مورد آزمایش قرار گرفت.

بحث و نتیجه گیری

نتایج نشان می‌دهد پایه‌های مورد آزمایش که با استفاده از پیوند جوانه آلوده به بیماری جاروک آلوده گردیدند و پایه نقشی در مهار بیماری جاروک ندارند و همگی بعد از چند ماه علائم جارویی را از خود نشان دادند ولی این پایه‌ها بجز بکرایی و گریپ فروت که بصورت تک درخت در باغی در رودان و میناب مشاهده گردید در شرایط طبیعی هیچ گونه آلودگی از خود نشان ندادند (جدول شماره ۱). در این تحقیق برای هر نمونه گیاهی ۱۰ اصله مورد آزمایش قرار گرفت و همه پایه‌های بذری بعد از رشد کافی در یک زمان در تاریخ ۱۳۸۶/۳/۳۰ با پیوندک سالم مکزیکن لایم پیوند شدند نتایج آزمایشگاهی نمونه‌های گیاهی به روش *PCR* که بعد از دوماه از زمان آلوده شدن نهالها صورت گرفته بود در تمام نهالهای مثبت گزارش گردید. بدلیل اینکه برای هر نمونه گیاهی ۱۰ اصله نهال در نظر گرفته شد و همه نهالها در یک زمان واحد جارویی شدن را از خود نشان ندادند بعد از آلوده شدن اولین نهال، مدت زمان ثبت شده در جدول زمانی است که مابقی نهالها در هر نمونه به بیماری جاروک لیمو ترش آلوده شده‌اند.

جدول شماره ۱: واکنش پایه های تجارتي مرکبات در مقابل مایه زنی جاروک لیمو ترش از طریق پیوند

نوع پایه	ظاهر علائم ظاهری	PCR	آلودگی در طبیعت	ردیف
نارنج (<i>C. aurantium</i>)	+	+	-	۱
بکرای (<i>C. reticulata</i> × <i>C. limmetta</i>)	+	+	+	۲
ولکامریانا (<i>C. volkameriana</i>)	+	+	-	۳
رانگ پورلایم (<i>C. limonia</i>)	+	+	-	۴
ترنج (<i>C. medica</i>)	+	+	-	۵
کلثوپاترا ماندرین (<i>C. reshni</i>)	+	+	-	۶
ماکروفیلا (<i>C. macrophylla</i> Wester)	+	+	-	۷
تایوانیکا (<i>C. taiwanica</i>)	+	+	-	۸
لیمو آستارایی	+	+	-	۹
راف لیمون (<i>C. jambhiri</i>)	+	+	-	۱۰
گریپ فروت (<i>C. paradisi</i>)	+	+	+	۱۱
لیمو لیسبون (<i>C. lemon</i>)	+	+	-	۱۲

واکنش ارقام ترش استان هرمزگان و ارقام ترش شمال کشور نسبت به بیماری جاروک لیمو ترش:

بدور جمع آوری شده از بیوتیپ های لایم استان هرمزگان همگی در تاریخ ۳ آبان ۸۵ در خزانه بذری ایستگاه میناب کشت گردید به منظور آماده شدن پایه های ارقام ترش استان هرمزگان در اواخر اسفندماه ۱۳۸۵ و فروردین ۱۳۸۶ از خزانه بذری به خزانه انتظار منتقل شدند و بعد از آماده شدن برای پیوند در تاریخهای مختلف با پیوندک سالم لایم پیوند شدند. از بین ۴۱ بیوتیپ جمع آوری شده در استان هرمزگان ۱۶ بیوتیپ از باغ های شهرستان میناب جمع آوری شده بود که با کد شماره یک نام گذاری شده است بعد از مایه کوبی این بیوتیپ ها با پیوندک سالم لیمو ترش که در تاریخ های مختلف صورت گرفت و سپس در سال ۱۳۸۸ پس از آماده شدن با استفاده از پیوندک آلوده به جاروک پیوند شدند. نتایج نشان داد مایه کوبی به وسیله پیوندک آلوده به جاروک لیمو ترش علائم ظاهری از جاروک بر روی آنها پدیدار گردید و تست آنها به روش PCR بعد از دو ماه از زمان آلوده سازی مثبت گزارش گردید. این بیوتیپ ها هیچ گونه علائم ظاهری جاروک نیز در طبیعت از خود نشان ندادند. در منطقه هشت بندی از توابع شهرستان میناب پنج بیوتیپ شناسایی گردید که با کد شماره ۳ نامگذاری گردید. از منطقه سندک شش بیوتیپ شناسایی و جمع آوری گردید که با کد چهار نامگذاری شدند، همه این بیوتیپ ها بعد از مایه کوبی به بیماری جاروک مبتلا گردیدند این بیوتیپ ها در طبیعت نیز به این بیماری دچار شدند و علائم جاروی شدن بر روی آنها پدیدار گردید (جدول ۳). تعداد سه بیوتیپ هم از منطقه جغین شناسایی و جمع آوری که با کد ۵ نامگذاری گردیدند، همه آنها نیز بعد از عمل مایه کوبی به وسیله پیوندک آلوده به جاروک به این بیماری مبتلا گردیدند. علاوه بر آن بیوتیپ های با کد ۱-۵ و ۳-۵ نیز بصورت طبیعی در طبیعت علائم جاروی بر روی آنها ظاهر گردید.

عکس العمل ارقام ترش شمال کشور به عنوان پایه مکزیکن لایم نسبت به فیتو پلاسمای عامل بیماری جاروک لیمو ترش:

در راستای ارزیابی مقاومت پایه های تجارتي و بیوتیپ های لایم نسبت به فیتو پلاسمای عامل جاروک لیمو ترش تعداد ۳۲ نمونه از ارقام ترش ناشناخته شمال کشور که در کلکسیون ایستگاه تحقیقات مرکبات کترا نگهداری می شود شناسایی و پس از بذری گیری در تاریخ ۲۲/۱۲/۸۵ در ایستگاه تحقیقات کشاورزی میناب در شاسی کشت گردید و ضمن مراقبتهای لازم در تاریخهای

مختلف با پیوندک آلوده به جاروک پیوند شدند. نتایج نشان می دهد واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) برای همه نمونه ها مثبت گزارش گردید.

با توجه به شیوع بیماری جاروک لیمو ترش در استان هرمزگان و امکان گسترش آن به استانهای همجوار لزوم یافتن ارقام مقاوم و متحمل به این بیماری را ضرورت می بخشد. ولی با توجه به اجرای چندین طرح در زمینه پایه و پیوندک توسط نگارنده مشخص شده به دلیل حرکت فیتوپلاسما به کلیه اندامهای گیاهی، نوع پایه هیچ نقشی در مهار بیماری جاروک ندارد.

منابع

- ۱- ابراهیمی، ی.، ع. حیاتبخش و ف. انوری. ۱۳۷۹. نتایج بررسی و مقایسه اثرات پایه های مختلف روی عملکرد کمی و کیفی نارنگی پیچ. خلاصه مقالات دومین کنگره علوم باغبانی ایران. صفحه ۹.
- ۲- رادنی، ح. ۱۳۷۵. پایه های درختان میوه. انتشارات سازمان تحقیقات کشاورزی. صفحه ۵۰۶.
- ۳- رحیمیان، ح.، و. علوی و ج. شایستگان. ۱۳۷۹. زوال درختان پرتقال روی پایه نارنج نشانه ای بر احتمال انتقال طبیعی ویروس تریتستزای مرکبات در مازندران. خلاصه مقالات چهاردهمین کنگره گیاهپزشکی ایران صفحه ۱۳۲.
- ۳- انوری، ف. ۱۳۶۸. پایه های مرکبات و اهمیت انتخاب آنها. نشریه تحقیقاتی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر.
- ۴- بی نام. ۱۳۸۲. آمار نامه کشاورزی. انتشارات سازمان جهاد کشاورزی استان هرمزگان.
- ۵- حاجی وند، ش. ۱۳۸۰. شناسایی و ارزیابی درختان مرکبات دارای تنوع ژنتیکی بارز در باغات شمال و جنوب ایران. گزارش سالانه مرکبات، بخش تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی هرمزگان، بندرعباس، ایران.
- ۶- حاجی وند، ش. ۱۳۸۰. بررسی مقدماتی تیپ های طبیعی لایم در استان هرمزگان. گزارش نهائی مرکبات، بخش تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی هرمزگان، بندرعباس، ایران.
- ۷- رادنی، ح. ۱۳۷۵. پایه های درختان میوه. انتشارات وزارت کشاورزی.
- ۸- رحیمیان، ح و ع. زارعی. ۱۳۸۱. ویژگیهای برخی از جدایه های منتقل شده با شته ویروس تریتستزای مرکبات. خلاصه مقالات پانزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. صفحه ۲۵۷.
- ۹- شفیعی، و و ک. ایزدپناه. ۱۳۸۱. گزارش ویروس تریتستزای مرکبات از جنوب ایران. خلاصه مقالات پانزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. صفحه ۲۹۲.

- 10- Bove, J.M., M. Garnier, A.M.M. Mjeni and A. Khayrallah. 1988. Witches, broom disease of small fruited acid lime trees in Oman. First MLO disease of citrus. pp. 307-309. In proc. 10th Conf. IOCV. Riverside, California.
- 11- Bove, J.M., L. Zreik, J.L. Danet, A.M.M. Mjeni and M. Garnier. 1993. Witches, broom of lime trees: Monoclonal antibody and DNA probe for the detection of the MLO and the identification of a possible vector. pp. 342-348. In: Proc. 12th Conf. IOCV. California, Riverside.
- 12- Bove, J.M. and M. Garnier. 1998. Major diseases and pathogens of citrus in the Mediterranean and western asia: Today and tomorrow. pp. 1-10. In Proc. 10th. Cong. Medit. Phytopathol. Uninon. Montpellier, France.
- 13- Bove, J.M., J.L. Danet, K. Bananej, N. Hassansadeh, M. Taghizadeh, M. Salehi and M. Garnier. 1998. Witches, broom disease of lime (WBDL) in Iran. Proc. 14th Conf. IOCV. Campinas SP Brazil, 75.
- 14- Garnier, M., L. Zreik and J.M. Bove. 1991. Witche's broom a lethal mycoplasmal disease of lime trees in the Sultanate of Oman and the United Arab Emirates. Plant Dis. 75: 546-551.
- 15- Ghosh, D.K., A.K. Das, S. Singh, S.J. Singh and Y.S. Ahlawat. 1998. Witche's broom a new phytoplasma disease of acid lime in India. Proc. 14th Conf. IOCV. Campinas SP, Brazil, 147.
- 16- Murthy, S.V.K. 1995. Efficiency of zinc (65-zn) absorbtion by citrus and poncirus rootstock. Citrus Abstracts. vol. 1. No. 1.
- 18- Salehi, M., K. Izadpanah and H. Rahimian. 1997. Witche's broom disease of lime in Sistan- Baluchistan. Iran. J. Plant Path. 33: 76.

- 19- Salehi, M., K. Izadpanah, and M. Taghizadeh. 2000. A study on host range and possible vector of lime witch's broom in Iran. Proc. 14th Plant. Protect. Cong. Iran. Isfahan. Univ. Techno: 146.
- 20- Shereiqi, K.E. and S. Gassouma. 1993. Witche's broom of lime in the United Arab Emirates. pp. 453-454. In Proc. 12th. Conf. IOCV. Riverside, California.

Abstract

A Study of the Tolerance of Citrus Natural Biotypes and Hormozgan Adapted Citrus Cultivars for rootstock important selection to Lime Witches Broom Disease Agent. Choosing the best combination of the rootstock and scion for Mexican Lime in the region and compatible with desirable characteristics (quality and quatitives) the disease resistance to Witche's BroomDisease of Lime the important investigation of Mexican Lime (citrus aurantifolia). In order to test on the basis of the various citrus and cross the natural lemon sour as the basis of Mexican Lime for four years after the year in 2007 in Minab agricultural research station was achieved. The experiment on 12 cultivars rootstock and 41 biotype of hormozgan province 19 samples citrus north of Iran after Multiplication with scion healthy Mexican Lime would link and ultimately with the use of scion infected with WBDLI inoculation accomplished. After the three months of all plant organs Via PCR examined. The results was showed move Phytoplasma in all the organs plant to easily takes place and based on the results of any of them unable to prevent Phytoplasma and eventually all organs plant on the basis of the different WBDLI were contaminated into disease and could not be controlled.

Keywords: Lime, rootstock, Witches broom, Mexican lime, Phytoplasma