Short Article

Iranian Journal of Forest and Range Protection Research DOI: 10.22092/IJFRPR.2025.367919.1654

Vol. 23, No. 1, Page 180-188 (2025)

The first report of phytoplasma detection in *Haloxylon*-planted areas of Qom and Tehran provinces

Mehrdad Alizadeh[1], Seyedeh Masoomeh Zamani[2*], Ali Alizadeh Aliabadi[3] and Naser Safaie[4]

1-PhD, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.

2*- Corresponding author, Assistant Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran. E-mail: mzamani@rifr-ac.ir

3- Associate Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.

4- Associate Prof., Department of Plant Pathology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Received: 07.12.2024 Revised: 02.03.2025 Accepted: 03.03.2025

Abstract

Background and Objective: Phytoplasmas are small, cell wall–less bacteria that live as obligate parasites in the phloem tissues of plants and can cause significant diseases. Due to the absence of a cell wall, these bacteria are capable of penetrating plant cells and utilizing plant nutrients. Phytoplasmas are recognized as plant pathogens and can directly affect plant metabolic processes. Symptoms caused by phytoplasma infection include leaf yellowing, dwarfism, conversion of flowers into leaf-like structures (phyllodes), and reduced plant productivity. These symptoms not only compromise plant health but may also lead to decreased agricultural output and considerable economic losses. Given the critical importance of agriculture for food security and the livelihoods of farmers, understanding and managing diseases caused by phytoplasmas is essential.

Methodology: In this study, Haloxylon ammodendron shrubs showing symptoms of witch's broom were sampled in Qom and Tehran provinces to conduct a detailed investigation of phytoplasma presence in these plants. Total DNA extraction was performed, involving the isolation and purification of DNA from plant tissues. This procedure required high precision and strict adherence to specific conditions to prevent sample contamination. Following DNA extraction, Nested-PCR was employed to identify and confirm the presence of phytoplasma in the samples. This method enables accurate detection and allows further analysis of phytoplasma genetic diversity. Additionally, modern molecular techniques, including genome sequencing, may provide deeper insights into the biological and pathogenic characteristics of phytoplasmas.

Results: The findings revealed that phytoplasma is widespread in certain areas of Qom and Tehran provinces, posing a significant threat to Haloxylon-planted regions in these areas. This report is particularly noteworthy as it represents the first confirmed occurrence of phytoplasma infection in H. ammodendron shrubs in Iran and worldwide. Desert ecosystems, such as Haloxylon shrublands, play a crucial role in soil preservation and erosion prevention, and the spread of phytoplasma could lead to the degradation of these habitats. Furthermore, the results highlight the urgent need for effective control measures to prevent the disease from spreading, as these shrublands are critical not only for the environment but also for the livelihoods of local communities.

Conclusion: There is a clear necessity for further research and the implementation of

appropriate management strategies to control and prevent phytoplasma disease in Haloxylon shrublands. Considering the disease's occurrence in multiple regions, identifying vectors and transmission pathways is of particular importance. This knowledge can assist researchers and practitioners in designing effective control and prevention strategies. Therefore, a comprehensive and multifaceted approach is required for managing this disease, involving scientific research, interdisciplinary collaboration, and active participation of local communities to preserve the health of Haloxylon ecosystems. In addition, educating farmers about disease symptoms and preventive measures should be an integral component of management programs aimed at minimizing the damage caused by phytoplasma.

Keywords: Phytoplasma, *Haloxylon ammodendron*, Qom, Tehran, detection

مقاله کوتاه

اولین گزارش از ردیابی فیتوپلاسما در تاغزارهای استان‌های قم و تهران

مهرداد علیزاده[۱]، سیده معصومه زمانی[۲*]، علی علیزاده علی‌آبادی[۳] و ناصر صفایی[۴]

۱- دانش‌آموخته دکتری، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران.

۲*- نویسنده مسئول، استادیار پژوهش، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران.

پست‌الکترونیک: mzamani@rifr-ac.ir

۳- دانشیار پژوهش، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران.

۴- دانشیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۹/۱۷ تاریخ اصلاح نهایی: ۱۴۰۳/۱۲/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۱۳

چکیده

سابقه و هدف: فیتوپلاسماها، باکتری‌های کوچک و بدون دیواره سلولی هستند که به‌عنوان انگل‌های اجباری در بافت‌های آبکش گیاهان زندگی می‌کنند و می‌توانند موجب بروز بیماری‌های مهمی در گیاهان شوند. این باکتری‌ها به‌دلیل فقدان دیواره سلولی، قادر به نفوذ به سلول‌های گیاهی هستند و از مواد مغذی گیاهان استفاده می‌کنند. فیتوپلاسماها به‌عنوان بیمارگرهای گیاهی شناخته می‌شوند و می‌توانند به‌طور مستقیم بر فرایندهای متابولیکی گیاه تأثیر بگذارند. علائم ناشی از آلودگی فیتوپلاسما شامل زردی برگ‌ها، کوتولگی، تغییر شکل گل‌ها به ساختارهای برگی (فیلودی) و کاهش باردهی گیاهان می‌باشد. این علائم نه‌تنها بر سلامت گیاه تأثیر می‌گذارد، بلکه می‌تواند به کاهش تولید محصولات کشاورزی و خسارتهای اقتصادی قابل‌توجهی منجر شود. با توجه به اهمیت کشاورزی در تأمین امنیت غذایی و معیشت کشاورزان، شناخت و مدیریت بیماری‌های ناشی از فیتوپلاسماها ضروریست.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق، نمونه‌برداری از درختان تاغ که دارای علائم بوته جارویی هستند، در مناطقی از استان‌های قم و تهران انجام شد تا بررسی دقیقی از وجود فیتوپلاسما در این گیاهان انجام شود. برای این منظور، از روش استخراج دی‌ان‌ای کل استفاده شد که شامل جداسازی و خالص‌سازی دی‌ان‌ای از بافت‌های گیاهی بود. این فرایند نیازمند دقت بالا و رعایت شرایط خاص برای جلوگیری از آلودگی نمونه‌هاست. پس از استخراج دی‌ان‌ای، از روش پی‌سی‌آر آشیانه (Nested-PCR) برای شناسایی و تأیید حضور فیتوپلاسما در نمونه‌ها استفاده گردید.

نتایج و یافته‌ها: نتایج تحقیقات نشان داد، فیتوپلاسما در برخی مناطق استان‌های قم و تهران به‌طور گسترده وجود دارد و این موضوع می‌تواند خطری جدی برای تاغزارهای این استان‌ها محسوب شود. این یافته به‌ویژه از آن جهت حائز اهمیت است که اولین گزارش از بروز بیماری فیتوپلاسمایی روی درختان تاغ در ایران و حتی در سطح جهانی به‌شمار می‌رود. تاغزارها، به‌عنوان اکوسیستم‌های مهم بیابانی، نقش حیاتی در حفظ خاک و جلوگیری از فرسایش آن دارند و شیوع فیتوپلاسما می‌تواند به تخریب این زیستگاه‌ها منجر شود. همچنین، نتایج نشان‌دهنده نیاز فوری به اقدامات کنترلی برای جلوگیری از گسترش این بیماری هستند، زیرا تاغزارها نه‌تنها برای محیط‌زیست بلکه برای معیشت جوامع محلی نیز اهمیت دارند.

نتیجه‌گیری: ضرورت انجام مطالعات بیشتر و اتخاذ تمهیدات لازم برای مدیریت و کنترل بیماری فیتوپلاسمایی در تاغزارها به‌وضوح احساس می‌شود. با توجه به گسترش این بیماری در مناطق مختلف، شناسایی ناقل‌های بیماری و روش‌های انتقال آنها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. این شناسایی می‌تواند به محققان و کارشناسان کمک کند تا راهبردهای مؤثری برای کنترل و پیشگیری از شیوع بیماری طراحی کنند. بنابراین، نیاز به یک رویکرد جامع و چندجانبه برای مدیریت این بیماری وجود دارد که شامل تحقیقات علمی، همکاری بین‌بخشی و مشارکت جامعه محلی باشد تا به حفظ سلامت تاغزارها و اکوسیستم‌های مرتبط کمک

شود. همچنین، آموزش کشاورزان درباره علائم بیماری و روش‌های پیشگیری نیز باید جزء برنامه‌های مدیریتی قرار گیرد تا بتوان خسارتهای ناشی از فیتوپلاسما را کاهش داد.

واژه‌های کلیدی: فیتوپلاسما، تاغ، قم، تهران، ردیابی

مقدمه

گونه‌های تاغ (*Haloxylon* spp.) شامل درختان کوچک یا درختچه‌ها می‌شوند که ازلحاظ فیلوژنتیکی متعلق به خانواده Amaranthaceae و راسته Caryophyllales می‌باشند. جنس *Haloxylon* گستره‌ای از مدیترانه تا مرکز آسیا و چین دارد. گونه‌های این جنس می‌توانند نقش‌های مهمی را در حفظ محیط، مانند کنترل باد و تثبیت شن داشته باشند. علاوه‌بر اینها، می‌توانند به محیط‌های خشن مانند خشکی، بیابان، دماهای بالا و طوفان‌های شنی سازگار شوند (Dong *et al.*, 2016). از دیگر ویژگی‌های این گیاه، دارا بودن دیرزیستی فیزیولوژیک در حدود ۲۵-۲۰ سال و دیرزیستی جنگلی بارز در حدود ۲۰-۱۵ سال می‌باشد. این گیاهان به شکل توده‌های کم‌وبیش انبوه، پراکنده و تخریب‌شده در بعضی از مناطق خشک و بیابانی دیده می‌شوند. وجود این گیاه در ایران سابقه‌ای طولانی دارد ولی در عمل از سال ۱۳۴۴ از این گیاه به‌عنوان گیاه راهبردی در مناطق بیابانی یاد شده است. گیاه تاغ با خصوصیات ویژه مرفولوژیک مانند وضعیت برگ و ریشه و نیز مقاومت و بردباری در شرایط سخت اقلیمی می‌تواند در شرایط بیابانی و در مناطقی که دما در تابستان به حدود ۵۰ درجه سانتی‌گراد و در زمستان گاهی به حدود منفی ۲۵ درجه سانتی‌گراد می‌رسد، مستقر شود و رشد مناسبی داشته باشد. این گیاه در شرایط سختی که کمتر گیاهی امکان تحمل آن را دارد، به‌راحتی دارای توانایی جذب مواد غذایی از خاک‌های شنی، فقیر و بسیار فقیر است (Farzaneh *et al.*, 2007).

فایتوپلاسماها بیمارگر باکتریایی گیاهان هستند که سبب کاهش عملکرد اقتصادی و خسارت روی گیاهان یکساله و چندساله ازجمله درختان میوه و چوبی می‌شوند (Marcone, 2015; Kumari *et al.*, 2019). این گروه می‌توانند بیش از ۱۰۰۰ گونه گیاهی را در سرتاسر جهان آلوده کنند که سبب خسارت‌های اقتصادی زیادی به محصولات کشاورزی و گیاهان جنگلی می‌شود (Che *et al.*, 2009). فیتوپلاسماها محدود به آوندهای آبکش گیاهان هستند که از ابتدای کشف آن در سال ۱۹۷۶، بیماری‌های مختلفی در دنیا گزارش شده است (Lee *et al.*, 2000). حضور فیتوپلاسما همراه با طیف وسیعی از علائم می‌باشد که شامل کوتولگی، گل سبزی، گره‌های کاهش‌یافته، تورم جوانه، کوچکی برگ، جاروی جادوگر، فیلودی، بدشکلی گل‌آذین و تغییر رنگ آوندی می‌شود. این علائم در گونه‌های مختلف گیاهی متفاوت می‌باشد یا اینکه علائم مشابهی توسط یک فیتوپلاسما در میزبان‌های مختلف ایجاد می‌شود (Marcone, 2015). این میکروارگانیسم‌ها به‌عنوان بیمارگرهای گیاهی در سال ۱۹۹۲ تحت عنوان فیتوپلاسما نام‌گذاری شدند (Lee *et al.*, 2000). ابزارهای مولکولی مانند PCR/RFLP و Nested-PCR روی ناحیه 16S rDNA توسعه یافته است تا یک سیستم استاندارد و قابل‌قبول برای شناسایی و رده‌بندی فیتوپلاسما در گروه‌ها و زیرگروه‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (Zhao *et al.*, 2009)، هرچند که اخیراً اینها قابل کشت شده‌اند (Contaldo *et al.*, 2012, 2016, 2019) و روش‌های بیولوژیکی برای رده‌بندی هنوز قابل دسترس نیستند. اخیراً فیتوپلاسماها را در ۳۳ گروه رده‌بندی کرده‌اند (Bertaccini *et al.*, 2018). طبق آخرین تحقیقات، ۴۹ گونه از *Candidatus* Phytoplasma معرفی شده است که ۳۰۰ زیرگروه ریبوزومی دارند (Bertaccini, 2022). بسیاری از فیتوپلاسماهایی که اخیراً شناسایی شده‌اند، به‌دلیل مشاهده علائم در گیاهان کشت‌شده می‌باشد. به‌هرحال، آلودگی‌های فیتوپلاسما ، به‌ویژه در مناطق طبیعی،

ممکن است بدون علائم باشد، درنتیجه مورد توجه قرار نمی‌گیرد. همچنین، هرچند که فیتوپلاسما به‌طور عادی برای انتقال از گیاهی به گیاه دیگر نیاز به یک حشره ناقل دارد، ناقلان حشره‌ای در مورد بیشتر فیتوپلاسماها ناشناخته باقی مانده است. بنابراین، علاوه‌بر شناخت کلی ضعیف از تنوع فیتوپلاسماها در مناطق طبیعی، فاصله‌های زیادی در مورد درک اکولوژی فیتوپلاسماهای شناسایی‌شده وجود دارد (Trivellone *et al*., 2022). این گروه از باکتری‌ها روی میزبان‌های متنوعی می‌توانند باعث بیماری شوند که این میزبان‌ها شامل گیاهان چوبی و غیرچوبی می‌شود که مثال‌هایی از اینها شامل توت فرنگی، بادام زمینی، کاکتوس، گوجه فرنگی، تمشک سیاه، یونجه (Bertaccini, 2022)، زیتون تلخ (Harrison *et al*., 2003)، زبان‌گنجشک (Bricker & Stutz, 2004)، کاج (Babaei *et al*., 2020)، بید (Alfaro-Fernandez *et al*., 2011)، زردآلو، هلو، آلبالو (Laimer da Câmara Machado *et al*., 2001) و غیره می‌باشد.

هدف اصلی این مطالعه، بررسی حضور فیتوپلاسما در گیاهان تاغ (*Haloxylon persicum*) در استان‌های قم و تهران مرتبط با علائم مشاهده‌شده بود. برای دستیابی به این هدف، از روش Nested-PCR استفاده شد که یک تکنیک بسیار رایج برای ردیابی فیتوپلاسما است.

مواد و روش ها

نمونه‌برداری از تاغ‌های مشکوک به علائم فیتوپلاسما

در ۲۹ اردیبهشت سال ۱۴۰۱، در بازدید از مناطق اطراف قم و نزدیک به تهران، علائم مشکوک به فیتوپلاسما روی تاغزارها مشاهده شد. این درختان که به‌عنوان یکی از گونه‌های بومی و مقاوم در این مناطق شناخته می‌شوند، دارای علائم جارویی شدن (شکل ۱) و سرخشکیدگی بودند. بررسی‌های اولیه نشان داد، این علائم از استان قم شروع شده و تا حدود ۳۰ کیلومتری شهر تهران قابل مشاهده می‌باشد. به‌منظور شناسایی دقیق علت این پدیده و بررسی‌های مولکولی، از برگ‌های درختان تاغ در مناطق مختلف نمونه‌برداری شد. این نمونه‌ها برای انجام آزمایش‌های تخصصی و استخراج DNA به آزمایشگاه منتقل و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

استخراج **DNA** از تاغ‌های دارای علامت

برای استخراج DNA از بافت برگ‌های تاغ، ابتدا ۰/۱ گرم بافت خردشده با ازت مایع به یک ویال ۲ میلی‌لیتری منتقل شد. سپس ۸۰۰ میکرولیتر بافر CTAB که از قبل در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد گرم شده بود و ۰/۲ حجم بتا-مِرکاپتواتانول به ویال اضافه گردید. ویال‌های حاوی بافت و بافر در یک انکوباتور شیکردار در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و با سرعت ۱۸۰ دور در دقیقه به مدت یک شب (overnight) انکوبه گردیدند. پس از انکوباسیون، ویال‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند تا پلی‌ساکاریدها و قطعات درشت بافت گیاهی حذف شوند. سپس بخش رویی به یک ویال جدید منتقل شد و حجم برابر کلروفرم-ایزوآمیل الکل (نسبت ۲۴:۱) به آن اضافه شد و مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه تکان داده شد. این مرحله با سانتریفوژ کردن در سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه دنبال گردید و مراحل انتقال بخش رویی، اضافه کردن کلروفرم-ایزوآمیل الکل، تکان‌دادن و سانتریفوژ کردن نیز دوباره تکرار شد. در مرحله بعد، نیمی از حجم محلول NACL 5 مولار به مخلوط اضافه شد و به‌مدت ۲۰ دقیقه در یخ انکوبه گردید. سپس ۰/۱ حجم اولیه استات سدیم ۳ مولار و ۳/۲ حجم ایزوپروپانول به مخلوط اضافه شد و به‌مدت یک ساعت در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. پس از این مرحله، مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. پس از حذف بخش رویی، ۶۰۰ میکرولیتر الکل ۷۰ درصد به پلت اضافه شد و به‌مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه گردید تا پلت DNA با ورتکس خفیف شناور شود. سپس دوباره سانتریفوژ شده و در سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت.

درنهایت، پلت DNA را خشک کرده و ۵۰ میکرولیتر آب استریل به آن اضافه شد تا آماده استفاده برای آزمایش‌های بعدی شود (Porebski *et al*., 1997).

شکل ۱- علائم جارویی شدن روی درختچه‌های تاغ

Figure 1. Symptoms of witches' broom in *Haloxylon* shrubs.

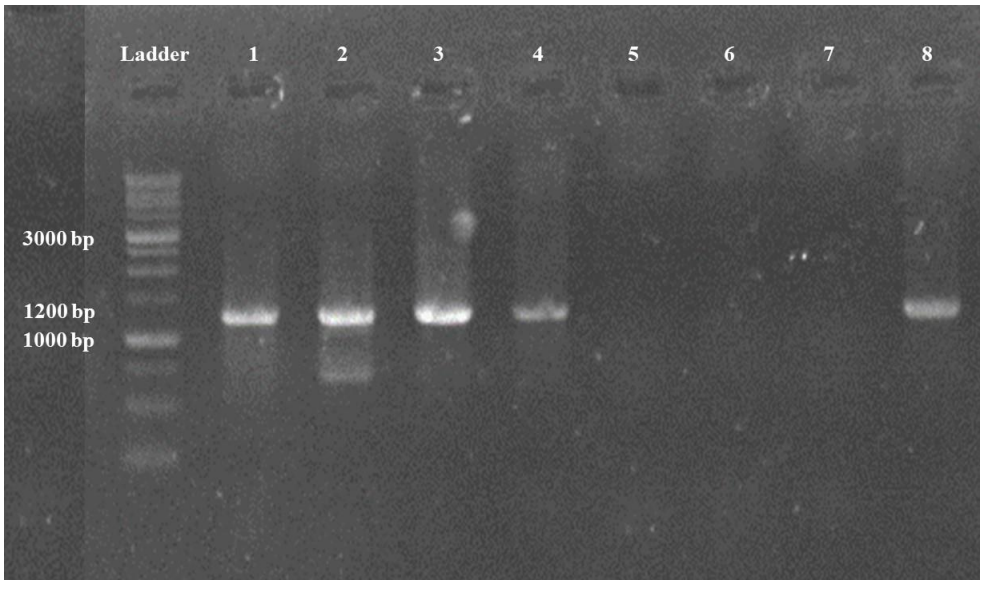
واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز آشیانه (**Nested-PCR**) برای فیتوپلاسما

پس از استخراج DNA ناحیه ۱۸۰۰ نوکلوتیدی با آغازگرهای P1 و P7 تکثیر شد و بعد با استفاده از پرایمرهای R16f و R16r ناحیه ۱۲۵۰ نوکلوتیدی مورد تکثیر قرار گرفت. این روش معروف به واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز آشیانه می‌باشد. برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز، ۱۲/۵ میکرولیتر مسترمیکس، ۹ میکرولیتر آب دیونیزه، ۱ میکرولیتر آغازگر رفت، ۱ میکرولیتر آغازگر برگشت و ۱/۵ میکرولیتر DNA استخراج‌شده استفاده شد که حجم نهایی

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز ۲۵ میکرولیتر می‌باشد. از محصول PCR قبلی به مقدار ۱/۵ میکرولیتر برداشته و برای واکنش بعدی با آغازگرهای R16 استفاده شد. تکثیر نواحی ژنی با دستگاه ترموسایکلر انجام شد. برای آغازگرهای P1 و P7 با اعمال ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۸ دقیقه برای واسرشت‌سازی اولی و به‌دنبال آن ۳۵ چرخه شامل ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه، ۵۵ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه و ۷۲ درجه سلسیوس به مدت یک‌ونیم دقیقه و درنهایت چرخه ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه برای گسترش نهایی انجام شد. برای آغازگرهای R16f و R16r با اعمال ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۲ دقیقه برای واسرشت‌سازی اولیه و به‌دنبال آن ۳۵ چرخه شامل ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه، ۵۰ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه و ۷۲ درجه سلسیوس به مدت یک‌ونیم دقیقه و درنهایت چرخه ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه برای گسترش نهایی انجام گردید (Gholami *et al*., 2020). محصول واکنش PCR از ژل آگارز یک درصد عبور داده شد و عکسبرداری با استفاده از دستگاه ژل انجام شد.

نتایج و بحث

علائم رایج بیماری روی تاغ‌ها شامل زوال، سرخشکیدگی و جاروک بود. بعد از استخراج DNA کل درختچه‌های تاغ، با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز آشیانه وجود فیتوپلاسما در *H. persicum* ردیابی شد. پایش در استان‌های آذربایجان‌شرقی، زنجان، قزوین، البرز، تهران و قم نشان داد، فیتوپلاسما از قم شروع شده و تا ۳۰ کیلومتری شهر تهران در یک مسیر ۷۰ کیلومتری تاغ‌های این مسیر را آلوده کرده است. استان‌های آذربایجان‌شرقی، زنجان، قزوین، البرز و قسمت‌های مختلف تهران فاقد آلودگی می‌باشند. نتایج حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز روی ژل نشان داد، اندازه باند ۱۲۵۰ جفت باز می‌باشد که متعلق به فیتوپلاسما است. بنابرین تاغ‌ها دچار عارضه جارویی شده‌اند که در اثر فیتوپلاسما ایجاد شده است.



شکل ۲– باند ۱۲۵۰ نوکلوتیدی مربوط به ردیابی فیتوپلاسما روی تاغ‌ها، باندهای ۱ تا ۳ متعلق به قم و ۴ و ۸ هم متعلق به تهران می‌باشد.

Figure 2. A 1250-nucleotide band associated with the detection of phytoplasma on *Haloxylon*. Bands 1 to 3 are from Qom, while bands 4 and 8 are from Tehran.

تحقیقات اخیر روی تنوع و توزیع فیتوپلاسماهای مؤثر بر درختچه‌ها متمرکز شده است. به‌عنوان‌مثال، مطالعات انجام‌شده در چین، بیماری‌های فیتوپلاسمایی مختلف را با علائم آن مانند جاروی جادوگر و زردشدن برگ‌ها ثبت کرده است (Wang *et al.*, 2022). شناسایی این بیمارگرها در درجه اول بر خصوصیات مولکولی تکیه کرده است که یک تعامل پیچیده را بین گونه‌های مختلف فیتوپلاسما و ناقلان حشرات آنها آشکار کرده است (Wang *et al.*, 2022). در اروپا، به‌ویژه در مناطقی مانند جمهوری چک، "Candidatus Phytoplasma prunorum" به‌عنوان یک تهدید قابل‌توجه برای گونه *Prunus* شناسایی شده است که منجر به ازبین‌رفتن شدید محصول می‌شود (Kiss *et al.*, 2024). خصوصیات مولکولی این بیمارگر بینش‌هایی را در مورد تنوع ژنتیکی و حساسیت میزبان ارائه کرده است که برای توسعه پایه‌های مقاوم بسیار مهم است (Kiss *et al.*, 2024). علاوه‌براین، تحقیقات دیگری در جزیره ججو، کره جنوبی، عفونت‌های ترکیبی فیتوپلاسما را در درختان *Elaeocarpus sylvestris* شناسایی کرد و نشان داد، چندین سویه می‌توانند در یک میزبان وجود داشته باشند که چالش‌هایی را برای تشخیص و درمان دقیق ایجاد می‌کند (Lee & Han, 2023). نقش ناقلان حشره در انتقال فیتوپلاسماها نیز یکی از نقاط کانونی در مطالعات اخیر بوده است. در بوگوتا، کلمبیا، محققان از درختان شهری نمونه‌برداری کردند تا ناقلان بالقوه را در میان گونه‌های Cicadellidae و Psylloidea شناسایی کنند. آنان دریافتند که چندین گونه حشره‌خوار ازنظر فیتوپلاسما مثبت بودند که نشان‌دهنده دخالت آنها در گسترش این عوامل بیماری‌زا به بلوط‌های آند و سایر فلورهای شهری است (Silva-Castaño *et al.*, 2024). به‌طورکلی، ادغام تکنیک‌های مولکولی پیشرفته مانند qPCR و سنجش‌های چندگانه، انقلابی در تشخیص فیتوپلاسما در درختچه‌ها ایجاد کرده است. این روش‌ها نه‌تنها حساسیت و ویژگی را بهبود می‌بخشند، بلکه بینش‌های مهمی را در مورد تنوع و توزیع فیتوپلاسما در مناطق مختلف و گونه‌های میزبان ارائه می‌کنند. ادامه تحقیقات برای روشن‌شدن بیشتر برهم‌کنش‌های پیچیده بین فیتوپلاسماها، میزبان‌های آنها و ناقل‌های حشره ضروری است که درنهایت راهبردهای مدیریت مؤثرتری را برای کاهش تأثیر این عوامل بیماری‌زا بر سیستم‌های کشاورزی ارائه می‌کند. توسعه مداوم ابزارهای تشخیصی سریع نقش مهمی در تلاش‌های تشخیص زودهنگام و پیشگیری خواهد داشت، درنتیجه از سلامت درختچه‌ها و بهره‌وری کشاورزی در مناطق آسیب‌دیده محافظت می‌کند.

مطالعه اخیر نشان می‌دهد که فیتوپلاسما می‌تواند بخش اعظمی از تاغ‌های تهران و قم را آلوده کند. این یک هشداری برای سایر مناطق برای جلوگیری از انتشار این بیماری به سایر تاغ‌های سالم می‌باشد. طبق بررسی‌های لازم در منابع مختلف، این نتیجه حاصل می‌شود که هیچ گزارشی از فیتوپلاسما روی گونه‌های تاغ در سرتاسر جهان وجود ندارد. هرچند که شناسایی دقیق و گروه‌بندی فیتوپلاسما روی *H. persicum* در تحقیق پیش‌رو انجام نشد، اما استفاده از روش Nested-PCR، حکایت از ردیابی فیتوپلاسما روی تاغ‌ها از تهران تا قم داشته است. هرچند ما روش Nested-PCR را برای ردیابی فیتوپلاسما استفاده کردیم، اما برای شناسایی گروه دقیق فیتوپلاسما باید ناحیه ژنی 16sRNA کلون شود، سپس توالی‌یابی گردد و با درخت فیلوژنی حاصل گروه‌بندی فیتوپلاسما انجام شود.

References

– Alfaro-Fernandez, A., Abad-Campos, P., Hernandez-Llopis, D., Serrano-Fernandez, A. and Font-San-Ambrosio, M.I., 2011. Detection of stolbur phytoplasma in willow in Spain. Bulletin of insectology, 64(Supplement). S111-S112.

– Babaei, G., Esmaeilzadeh-Hosseini, S.A., Zandian, M. and Bertaccini, A., 2020. Occurrence and identification of a phytoplasma associated with Pinus brutia witches' broom disease in Isfahan, Iran. Australasian Plant Pathology, 49(6): 655-660.

– Bertaccini, A., 2022. Plants and Phytoplasmas: When

Bacteria Modify Plants. Plants, 11(11): 1425.
- Bertaccini, A., Lee, I.M., Rao, G.P., Bertaccini, A., Fiore, N. and Liefting, L., 2018. Phytoplasmas: An Update In: Phytoplasmas: Plant Pathogenic Bacteria–I. Characterization and Epidemiology of Phytoplasma-Associated Diseases. Chapter 1: 1-29.
- Bricker, J.S. and Stutz, J.C., 2004. Phytoplasmas associated with ash decline. Arboriculture & Urban Forestry (AUF), 30(3): 193-199.
- Che, H.Y., Luo, D.Q., Fu, R.Y., Ye, S.B. and Wu, Y.F., 2009. Sequence analysis of 16S ribosomal DNA of phytoplasma associated with periwinkle yellows disease in Hainan. Acta Phytopathologica Sinica, 39: 212–216.
- Contaldo, N., Bertaccini, A., Paltrinieri, S., Windsor, H.M. and Windsor, D.G., 2012. Axenic culture of plant pathogenic phytoplasmas. Phytopathologia Mediterranea, 51: 607–617.
- Contaldo, N., D'Amico, G., Paltrinieri, S., Diallo, H.A., Bertaccini, A. and Rosete, Y.A., 2019. Molecular and biological characterization of phytoplasmas from coconut palms affected by the lethal yellowing disease in Africa. Microbiological research, 223: 51-57.
- Contaldo, N., Satta, E., Zambon, Y., Paltrinieri, S. and Bertaccini, A., 2016. Development and evaluation of different complex media for phytoplasma isolation and growth. Journal of Microbiological Methods, 127: 105-110.
- Dong, W., Xu, C., Li, D., Jin, X., Li, R., Lu, Q. and Suo, Z., 2016. Comparative analysis of the complete chloroplast genome sequences in psammophytic Haloxylon species (Amaranthaceae). PeerJ, 4: e2699.
- Farzaneh, H., Ali Ahmad Karuri, S., Jalili, A., Matinizadeh, M. and Teymouri, M., 2007. Study of the symbiosis of mycorrhizal fungi with hawthorn (Haloxylon sp.) in the man-planted forests of Sabzevar. Journal of Research and Construction, 20(2): 113-121.
- Gholami, J., Bahar, M. and Talebi, M., 2020. Simultaneous detection and direct identification of phytoplasmas in the aster yellows (16SrI), clover proliferation (16SrVI) and stolbur (16SrXII) groups using a multiplex nested PCR assay in potato plants. Potato Research, 63: 403-415.
- Harrison, N.A., Boa, E. and Carpio, M.L., 2003. Characterization of phytoplasmas detected in Chinaberry trees with symptoms of leaf yellowing and decline in Bolivia. Plant Pathology, 52(2): 147-157.
- Kiss, T., Šafářová, D., Navrátil, M. and Nečas, T., 2024. Molecular Characterization of 'Candidatus Phytoplasma prunorum'in the Czech Republic and Susceptibility of Apricot Rootstocks to the Two Most Abundant Haplotypes. Microorganisms, 12(2): 399.
- Kumari, S., Nagendran, K., Rai, A.B., Singh, B., Rao, G.P. and Bertaccini, A., 2019. Global status of phytoplasma diseases in vegetable crops. Frontiers in Microbiology, 10: 1349.
- Laimer da Câmara Machado, M., Paltrinieri, S., Hanzer, V., Arthofer, W., Strommer, S., Martini, M., Pondrelli, M. and Bertaccini, A., 2001. Presence of European stone fruit yellows (ESFY or 16SrX-B) phytoplasmas in apricots in Austria. Plant pathology, 50(1): 130-135.
- Lee, G.W. and Han, S.S., 2023. Molecular detection of phytoplasmas of the 16SrI and 16SrXXXII groups in Elaeocarpus sylvestris trees with decline disease in Jeju Island, South Korea. The Plant Pathology Journal, 39(1): 149.
- Lee, I.M., Davis, R.E. and Gundersen-Rindal, D.E., 2000. Phytoplasma: phytopathogenic mollicutes. Annual Reviews in Microbiology, 54(1): 221-255.
- Marcone, C., 2015. Current status of phytoplasma diseases of forest and landscape trees and shrubs. Journal of Plant Pathology, 9-36.
- Porebski, S., Bailey, L.G. and Baum, B.R., 1997. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. Plant molecular biology reporter, 15: 8-15.
- Silva-Castaño, A.F., Brochero, H. and Franco-Lara, L., 2024. Insects as potential vectors of phytoplasmas in urban trees in a mega-city: a case study in Bogotá, Colombia. Urban Ecosystems, 1-17.
- Trivellone, V., Cao, Y., and Dietrich, Ch. H. 2022. Comparison of traditional and next-generation approaches for uncovering phytoplasma diversity, with discovery of new groups, subgroups and potential vectors. Biology, 11(7): 977; https://doi.org/10.3390/biology11070977.
- Wang, X.Y., Zhang, R.Y., Li, J., Li, Y.H., Shan, H.L., Li, W.F. and Huang, Y.K., 2022. The diversity, distribution and status of phytoplasma diseases in China. Frontiers in Sustainable Food Systems, 6: 943080.
- Zhao, Y., Wei, W., Lee, I.-M., Shao, J., Suo, X. and Davis, R. E., 2009. Construction of an interactive online phytoplasma classification tool, iPhyClassifier, and its application in analysis of the peach X-disease phytoplasma group (16SrIII). International Journal of Systematic and Evolutionary, 59: 2582-2593.