

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

Mehrdad Alizadeh¹, Seyedeh Masoomeh Zamani^{2*} , Ali Alizadeh Aliabadi³ and Naser Safaie⁴

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 فیتوپلازما 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.

پست الکترونیک: 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 پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۱۳

تاریخ اصلاح نهایی: ۱۴۰۳/۱۲/۱۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۹/۱۷

چکیده

سابقه و هدف: فیتوپلازماها، 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. فیتوپلازماها به‌عنوان بیمارگرهای گیاهی شناخته می‌شوند و می‌توانند به‌طور مستقیم بر فرایندهای متابولیکی گیاه تأثیر بگذارند. علائم ناشی از آلودگی فیتوپلازما شامل زردی برگ‌ها، کوتولگی، تغییر شکل گل‌ها به ساختارهای برگ‌ری (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 فیتوپلازماها 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 فیتوپلازما 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 فیتوپلازما در نمونه‌ها استفاده گردید.

نتایج و یافته‌ها: نتایج تحقیقات نشان داد، فیتوپلازما 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 فیتوپلازمایی 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 فیتوپلازما 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 فیتوپلازمایی 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 فیتوپلازما را کاهش داد.

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

مقدمه

گونه‌های تاغ (*Haloxylon* spp.) شامل درختان کوچک یا درختچه‌ها می‌شوند که از لحاظ 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. علاوه بر 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).

فایتوپلازماها بیمارگر باکتریایی گیاهان هستند که سبب کاهش عملکرد اقتصادی و خسارت روی گیاهان یکساله و چندساله از جمله 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). فیتوپلازماها 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 فیتوپلازما 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 فیتوپلازما در میزبان‌های مختلف ایجاد می‌شود (Marcone, 2015). این میکروارگانیسم‌ها به‌عنوان بیمارگرهای گیاهی در سال ۱۹۹۲ تحت عنوان فیتوپلازما 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 رده‌بندی فیتوپلازما 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 فیتوپلازماها را در ۳۳ گروه رده‌بندی کرده‌اند (Bertaccini et al., 2018). طبق آخرین تحقیقات، ۴۹ گونه از *Candidatus Phytoplasma* معرفی شده است که ۳۰۰ زیرگروه ریپوزومی دارند (Bertaccini, 2022). بسیاری از فیتوپلازماهایی که اخیراً شناسایی شده‌اند، به‌دلیل مشاهده علائم در گیاهان کشت‌شده می‌باشد. به‌هرحال، آلودگی‌های فیتوپلازما، به‌ویژه در مناطق طبیعی،

مختلف نمونه برداری شد. این نمونه ها برای انجام آزمایش های تخصصی و استخراج DNA به آزمایشگاه منتقل و در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

استخراج DNA از تاغ های دارای علامت

برای استخراج DNA از بافت برگ های تاغ، ابتدا ۰/۱ گرم بافت خرد شده با ازت مایع به یک ویال ۲ میلی لیتری منتقل شد. سپس ۸۰۰ میکرولیتر بافر CTAB که از قبل در دمای ۶۵ درجه سانتی گراد گرم شده بود و ۰/۲ حجم پتا-مرکاپتواتانول به ویال اضافه گردید. ویال های حاوی بافت و بافر در یک انکوباتور شیکر در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و با سرعت ۱۸۰ دور در دقیقه به مدت یک شب (overnight) انکوبه گردیدند. پس از انکوباسیون، ویال ها به مدت ۱۰ دقیقه در سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند تا پلی ساکاریدها و قطعات درشت بافت گیاهی حذف شوند. سپس بخش رویی به یک ویال جدید منتقل شد و حجم برابر کلروفرم-ایزوآمیل الکل (نسبت ۱:۲۴) 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، تکان دادن و سانتریفوژ کردن نیز دوباره تکرار شد. در مرحله بعد، نیمی از حجم محلول 5 NACL مولار به مخلوط اضافه شد و به مدت 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 به مدت یک ساعت در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد انکوبه گردید. پس از این مرحله، مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد و سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. پس از حذف بخش رویی، ۶۰۰ میکرولیتر الکل ۷۰ درصد به پلت اضافه شد و به مدت 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 سانتی گراد قرار گرفت.

ممکن است بدون علائم باشد، در نتیجه مورد توجه قرار نمی گیرد. همچنین، هرچند که فیتوپلازما به طور عادی برای انتقال از گیاهی به گیاه دیگر نیاز به یک حشره ناقل دارد، ناقلان حشره ای در مورد بیشتر فیتوپلازماها ناشناخته باقی مانده است. بنابراین، علاوه بر شناخت کلی ضعیف از تنوع فیتوپلازماها در مناطق طبیعی، فاصله های زیادی در مورد درک اکولوژی فیتوپلازماهای شناسایی شده وجود دارد (Trivellone et al., 2022). این گروه از باکتری ها روی میزبان های متنوعی می توانند باعث بیماری شوند که این میزبان ها شامل گیاهان چوبی و غیرچوبی می شود که مثال هایی از اینها شامل توت فرنگی، بادام زمینی، کاکتوس، گوجه فرنگی، تمشک سیاه، یونجه (Bertaccini, 2022)، زیتون تلخ (Harrison et al., 2003)، زبان گنجشک (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 می باشد.

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

مواد و روش ها

نمونه برداری از تاغ های مشکوک به علائم فیتوپلازما در ۲۹ اردیبهشت سال ۱۴۰۱، در بازدید از مناطق اطراف قم و نزدیک به تهران، علائم مشکوک به فیتوپلازما روی تاغزارها مشاهده شد. این درختان که به عنوان یکی از گونه های بومی و مقاوم در این مناطق شناخته می شوند، دارای علائم جارویی شدن (شکل ۱) و سرخشیدگی بودند. بررسی های اولیه نشان داد، این علائم از استان قم شروع شده و تا حدود ۳۰ کیلومتری شهر تهران قابل مشاهده می باشد. به منظور شناسایی دقیق علت این پدیده و بررسی های مولکولی، از برگ های درختان تاغ در مناطق

بعدی شود (Porebski *et al.*, 1997).

درنهایت، پلت DNA را خشک کرده و ۵۰ میکرولیتر آب استریل به آن اضافه شد تا آماده استفاده برای آزمایش‌های



شکل ۱- علائم جارویی شدن روی درختچه‌های تاغ

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

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

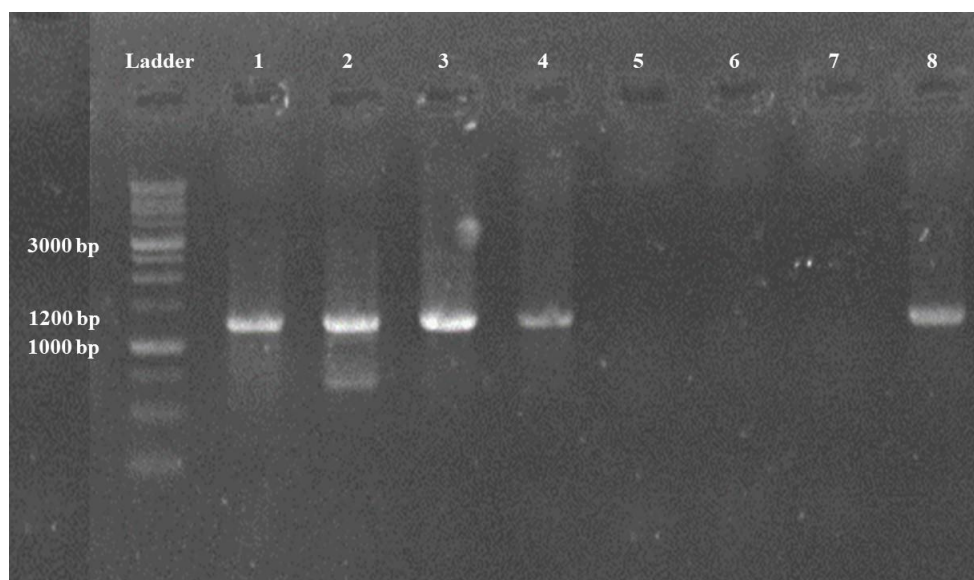
واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز آشیانه (Nested-PCR) برای فیتوپلازما پس از استخراج DNA ناحیه ۱۸۰۰ نوکلوتیدی با آغازگرهای P1 و P7 تکثیر شد و بعد با استفاده از پرایمرهای R16r و R16f ناحیه ۱۲۵۰ نوکلوتیدی مورد تکثیر قرار

از دستگاه ژل انجام شد.

نتایج و بحث

علائم رایج بیماری روی تاغ‌ها شامل زوال، سرخشیدگی و جاروک بود. بعد از استخراج DNA کل درختچه‌های تاغ، با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز آشیانه وجود فیتوپلازما در *H. persicum* ردیابی شد. پایش در استان‌های آذربایجان شرقی، زنجان، قزوین، البرز، تهران و قم نشان داد، فیتوپلازما از قم شروع شده و تا ۳۰ کیلومتری شهر تهران در یک مسیر ۷۰ کیلومتری تاغ‌های این مسیر را آلوده کرده است. استان‌های آذربایجان شرقی، 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 فیتوپلازما است. بنابراین تاغ‌ها دچار عارضه جارویی شده‌اند که در اثر فیتوپلازما ایجاد شده است.

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 به دنبال 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 در نهایت 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 به دنبال 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 در نهایت 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



شکل ۲- باند ۱۲۵۰ نوکلوتیدی مربوط به ردیابی فیتوپلازما 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.

مولکولی پیشرفته مانند qPCR و سنجش‌های چندگانه، انقلابی در تشخیص فیتوپلازما در درختچه‌ها ایجاد کرده است. این روش‌ها نه تنها حساسیت و ویژگی را بهبود می‌بخشند، بلکه بینش‌های مهمی را در مورد تنوع و توزیع فیتوپلازما در مناطق مختلف و گونه‌های میزبان ارائه می‌کنند. ادامه تحقیقات برای روشن شدن بیشتر برهم‌کنش‌های پیچیده بین فیتوپلازماها، میزبان‌های آنها و ناقل‌های حشره ضروری است که در نهایت 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، در نتیجه از سلامت درختچه‌ها و بهره‌وری کشاورزی در مناطق آسیب‌دیده محافظت می‌کند.

مطالعه اخیر نشان می‌دهد که فیتوپلازما می‌تواند بخش اعظمی از تاغ‌های تهران و قم را آلوده کند. این یک هشدار 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 فیتوپلازما روی گونه‌های تاغ در سرتاسر جهان وجود ندارد. هرچند که شناسایی دقیق و گروه‌بندی فیتوپلازما روی *H. persicum* در تحقیق پیش‌رو انجام نشد، اما استفاده از روش Nested-PCR، حکایت از ردیابی فیتوپلازما روی تاغ‌ها از تهران تا قم داشته است. هرچند ما روش Nested-PCR را برای ردیابی فیتوپلازما استفاده کردیم، اما برای شناسایی گروه دقیق فیتوپلازما باید ناحیه ژنی 16sRNA کلون شود، سپس توالی‌یابی گردد و با درخت فیلوژنی حاصل گروه‌بندی فیتوپلازما انجام شود.

تحقیقات اخیر روی تنوع و توزیع فیتوپلازماهای مؤثر بر درختچه‌ها متمرکز شده است. به عنوان مثال، مطالعات انجام شده در چین، بیماری‌های فیتوپلازمایی مختلف را با علائم آن مانند جاروی جادوگر و زرد شدن 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 فیتوپلازما و ناقلان حشرات آنها آشکار کرده است (Wang et al., 2022). در اروپا، به ویژه در مناطقی مانند جمهوری چک، "Candidatus Phytoplasma prunorum" به عنوان یک تهدید قابل توجه برای گونه *Prunus* شناسایی شده است که منجر به از بین رفتن 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). علاوه بر این، تحقیقات دیگری در جزیره ججو، کره جنوبی، عفونت‌های ترکیبی فیتوپلازما 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 فیتوپلازماها 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 از نظر فیتوپلازما مثبت بودند که نشان‌دهنده دخالت آنها در گسترش این عوامل بیماری‌زا به بلوط‌های آند و سایر فلورهای شهری است (Silva-Castaño et al., 2024). به طور کلی، ادغام تکنیک‌های

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 Liefing, 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.