مجله علوم و فنون باغبانی ایران جلد ۱۸ شماره ۳ صفحه‌های ۳۰۵ تا ۳۱۴ (۱۳۹۶)

اثر پایه بر بیماری جاروک لیموترش در پیوندک نژادگان‌های مختلف پرشین‌لایم (*Citrus latifolia* Tanaka)[1]

Effect of Rootstock on Witches' Broom Disease of Lime in Scions of Different Persian Lime (*Citrus latifolia* Tanaka) Genotypes

حامد حسن‌زاده خانکهدانی، سمیه رستگار*، بهروز گلعین، مرتضی گل‌محمدی و عبدالحسین ابوطالبی جهرمی[2]

چکیده

پرشین‌لایم متحمل‌ترین گونه مرکبات به بیماری جاروک لیموترش است که تاکنون اثرات پایه‌های مختلف بر این ویژگی پرشین‌لایم مورد ارزیابی قرار نگرفته است. برای بررسی اثر پایه‌های گوناگون بر واکنش پیوندک نژادگان‌های پرشین‌لایم به بیماری جاروک (جاروی جادوگر) لیموترش، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو فاکتور پایه شامل بکرایی، مکزیکن‌لایم، ولکامرلمون و نارنج و پیوندک شامل IAC، تاهیتی‌لایم، دیپرس‌لایم و پرشین‌لایم در ایستگاه تحقیقات کشاورزی میناب طی سال‌های ۱۳۹۳ تا ۱۳۹۶ اجرا شد. گیاهان پیوندی به روش پیوند سپری تولید و واکنش نهال‌های پیوندی و نیز دانهال پایه‌های پیوندنشده به‌روش مایه‌زنی با پیوندک مکزیکن‌لایم آلوده به فایتوپلاسمای بیماری جاروک ارزیابی شد. براساس نتیجه‌های به‌دست آمده از ردیابی فایتوپلاسما در ترکیب‌های پیوندی با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز، حضور فایتوپلاسما در پیوندک‌ها روی پایه مکزیکن‌لایم سریع‌تر (۴۰ روز پس از مایه‌زنی) و در پیوندک‌ها روی پایه ولکامرلمون دیرتر (۱۱۶ روز پس از مایه‌زنی) از دیگر پایه‌ها شناسایی شد. نشانه‌های جاروک تنها در دانهال‌ها (به‌جز ولکامرلمون) دیده شد و در ترکیب‌های پیوندی تا پایان زمان آزمایش نشانه‌ای دیده نشد. نشانه‌های جاروک در دانهال‌های مایه‌زنی‌شده مکزیکن‌لایم زودتر از دیگر دانهال‌ها دیده شد. پس از آن، نشانه‌ها در دانهال‌های بکرایی و سپس در دانهال‌های نارنج دیده شد. در مجموع پایه ولکامرلمون برای نژادگان‌های پرشین‌لایم به‌عنوان بهترین ترکیب پیوندی برای کشت در مناطق آلوده به بیماری جاروک لیموترش معرفی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: نژادگان‌های پرشین‌لایم، فایتوپلاسما، مایه‌زنی، ولکامرلمون.

مقدمه

بیماری جاروک لیموترش که ناشی از یک فایتوپلاسما به نام *Candidatus* Phytoplasma aurantifolia می‌باشد، نخستین بار در پایان دهه ۱۹۷۰ میلادی از کشور عمان و سپس در سال ۱۹۸۹ از کشور امارات متحده

۱- تاریخ دریافت: ۹۶/۹/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۱۸

۲- به‌ترتیب دانشجوی دکترای فیزیولوژی و اصلاح درختان میوه، گروه باغبانی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه هرمزگان و پژوهشگر بخش تحقیقات زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی هرمزگان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، استادیار گروه باغبانی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه هرمزگان، دانشیار و استادیار پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه گرمسیری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رامسر و دانشیار گروه باغبانی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم، ایران.

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (srastegar2008@gmail.com).

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-13]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1396.18.3.6.3]

عربی گزارش شد. این بیماری به‌تقریب باعث نابودی کامل درختان لیموترش (مکزیکن‌لایم) در این دو کشور شد (۱۵). این بیماری در ایران، نخستین بار در سال ۱۳۷۶ در منطقه قصرقند استان سیستان و بلوچستان و سپس از دیگر منطقه‌های این استان و بیشتر منطقه‌های لیموکاری استان‌های هرمزگان، کرمان و فارس گزارش شد. بیماری جاروک در این منطقه‌ها موجب از بین رفتن هزاران درخت مکزیکن‌لایم شد. از بین بردن منبع‌های آلودگی و استفاده از رقم‌های مقاوم، اقتصادی‌ترین و نیز عملی‌ترین راه پیشگیری و کنترل این بیماری است (۷، ۸).

پرشین‌لایم (*Citrus latifolia* Tanaka) از جمله گونه‌های مرکبات است که به‌خاطر دارا بودن مزه ترش یا اسیدی در مصارف گوناگون غذایی کاربرد دارد (۱۱). پرشین‌لایم یا تاهیتی‌لایم یا بیرس‌لایم یک دورگه سه‌گان (تریپلوئید) است. این گونه لایم در نواحی گرمِ منطقه‌های نیمه‌گرمسیر و گرمسیر دنیا پرورش می‌یابد. مکزیک بزرگترین تولیدکننده تجاری پرشین‌لایم است. این محصول به‌طور گسترده در کوبا، گواتمالا، هندوراس، السالوادور، مصر، فلسطین اشغالی، برزیل، هندوستان، چین و آرژانتین پرورش یافته و سطح زیرکشت قابل توجه با میزان تولید قابل قبولی در سال را به خود اختصاص داده است (۱۰، ۱۱). پرشین‌لایم دارای ویژگی‌های بارزی است که می‌تواند جایگزین مناسبی برای مکزیکن‌لایم در مناطق آلوده به جاروک باشد. از جمله می‌توان به درشتی میوه، بی‌بذری و زودرسی میوه اشاره کرد. یکی از ویژگی‌های این گونه مرکبات، تحمل نسبی آن به بیماری فایتوپلاسمایی جاروک است که در دو دهه گذشته بسیاری از درختان مکزیکن‌لایم را در جنوب ایران از بین برده است. در طبیعت و نیز در بسیاری از آزمایش‌های مایه‌زنی با عامل بیماری از راه پیوند، در پرشین‌لایم نشانه‌های بیماری جاروک دیده نشده و به‌عنوان یک گونه متحمل مطرح است (۱۸). سایه‌سار غیرمتراکم این گیاه منجر به بروز آسیب‌هایی مانند آفتاب‌سوختگی میوه و نیز آسیب به پوست درخت می‌شود که در نتیجه شرایط را برای ایجاد و گسترش برخی بیماری‌ها مانند بیماری قارچی سرخشکیدگی ناتراسیایی فراهم می‌کند (۵). هم اکنون چندین نژادگان پرشین‌لایم در ایران وجود دارد که برخی از راه تولیدکنندگان نهال در جنوب کشور ازدیاد یافته و به نام معمول پرشین‌لایم شناخته می‌شود. برخی دیگر مانند IAC، تاهیتی‌لایم، دیپرس‌لایم و بیرس‌لایم از راه نهادهای مربوط، چند سالی است وارد ایران شده و در حال بررسی سازگاری در مناطق گوناگون مرکبات‌خیز کشور می‌باشند (۳). این نژادگان‌ها از نظر ریخت‌شناسی تفاوت‌های مشخصی با هم نداشته ولی از نظر ژنتیکی تفاوت‌های اندکی نشان می‌دهند (۱۶).

رقم‌های دیگری از مرکبات نیز ممکن است وجود داشته باشد که به جاروک لیموترش متحمل باشند، ولی هدف یافتن جایگزینی برای مکزیکن‌لایم است که بتواند نقش‌های آن را در سبد غذایی خانوار ایفا نماید. در حال حاضر کاشت درختان پرشین‌لایم در جنوب ایران رو به گسترش است و این گونه به‌طورمعمول روی دو پایه مکزیکن‌لایم و بکرایی پیوند شده و در اختیار باغداران قرار می‌گیرد. اما این دو پایه از حساس‌ترین گونه‌های مرکبات به بیماری جاروک لیموترش می‌باشند (۳، ۱۳) و با توجه به این‌که درختان پرشین‌لایم در کانون آلودگی به این بیماری پرورش می‌یابند، با وجود تحمل نسبی، ممکن است حساسیت دو پایه گفته‌شده بر رشد رویشی آن‌ها اثرگذار باشد. از سویی، پایه مکزیکن‌لایم که پرکاربردترین پایه مرکبات در جنوب کشور است، در رده‌بندی پایه‌های مرکبات، در گروه پایه‌های میانه از نظر تحمل به قلیایی‌بودن خاک قرار دارد (۶). بنابراین یافتن مناسب‌ترین پایه برای پرشین‌لایم و هم‌چنین بررسی واکنش پیوندک این گونه روی پایه‌های گوناگون به بیماری جاروک ضروری به‌نظر می‌رسد.

مواد و روش‌ها

برای بررسی اثر پایه بر واکنش به فایتوپلاسمای عامل بیماری جاروک لیموترش در پیوندک نژادگان‌های پرشین‌لایم، آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی به صورت فاکتوریل شامل چهار پایه ولکامرلمون

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-13]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1396.18.3.6.3]

(*C. volkameriana* Ten and Pasq.)، مکزیکن‌لایم (*C. aurantifolia* Swingle)، نارنج (*C. aurantium* L.) و بکرایی (*Citrus* sp.) و چهار پیوندک شامل IAC، تاهیتی‌لایم (Tahitian lime)، دیپرس‌لایم (Deperse lime) و پرشین‌لایم (Persian lime) در ایستگاه تحقیقات کشاورزی میناب واقع در ۱۰۵ کیلومتری شرق بندرعباس در استان هرمزگان، در عرض جغرافیایی ۲۷ درجه و ۶ دقیقه و ۲۷ ثانیه شمالی و طول جغرافیایی ۵۷ درجه و ۵ دقیقه و ۳۹ ثانیه شرقی با ارتفاع ۲۷ متر از سطح دریا در سه تکرار انجام شد. پیوندک IAC از پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری در رامسر، پیوندک تاهیتی‌لایم و دیپرس‌لایم از ایستگاه تحقیقات کشاورزی میناب و پیوندک پرشین‌لایم از باغ آقای اژدری در رودان استان هرمزگان تهیه شد. در آغاز، پایه‌ها با کشت بذر، تولید و پس از انتقال و نگهداری در خزانه انتظار و داشتن شرایط پیوند، پیوندزنی در ارتفاع ۲۰ سانتی‌متری از سطح خاک، در هر یک از ترکیب‌های پایه و پیوندک به روش کوپیوند سپری انجام شد.

برای بررسی واکنش گیاهان پیوندی حاصل از پیوندک چهار نژادگان پرشین‌لایم روی پایه‌های مورد بررسی به بیماری جاروک، این گیاهان از طریق پیوند با عامل بیماری جاروک لیموترش مایه‌زنی شدند. برای مایه‌زنی، از پیوندک مکزیکن‌لایم آلوده به بیماری جاروک که از درختان بالغ آلوده تهیه شده بود، استفاده شد. وجود فایتوپلاسمای بیماری جاروک در درخت مکزیکن‌لایم (منبع پیوندک) با آزمون واکنش زنجیره‌ای پلیمراز[۱] به اثبات رسید. پیوندک‌ها بدون جوانه فعال بود تا از تبدیل آن‌ها به جاروک‌های بزرگ و کاهش رشد نهال‌های مایه‌زنی‌شده جلوگیری شود. افزون بر ۱۶ ترکیب پایه و پیوندک مورد بررسی، چهار پایه پیوندنشده شامل مکزیکن‌لایم، ولکامرلمون، نارنج و بکرایی نیز از راه پیوند با عامل بیماری جاروک لیموترش مایه‌زنی شدند.

در نهال‌های پیوندی، محل مایه‌زنی در فاصله ۱۰ سانتی‌متری محل پیوند اولیه و در دانهال‌های غیرپیوندی (مکزیکن‌لایم، ولکامرلمون، نارنج و بکرایی) محل مایه‌زنی در ۳۰ سانتی‌متری سطح خاک انتخاب شد. برای هر ترکیب پیوندی و نیز دانهال‌های غیرپیوندی، سه تکرار در نظر گرفته شد. مایه‌زنی در هر نهال با استفاده از دو پیوندک به روش سپری، برای اطمینان از گیرایی پیوند و آلوده‌سازی انجام شد.

پس از انجام مایه‌زنی، در دوره‌های زمانی ۱۰ روز یک‌بار، نمونه برگ از پیوندک پرشین‌لایم‌ها و نیز دانهال‌های مایه‌زنی‌شده، در سه تکرار تهیه شد و پس از استخراج DNA از رگبرگ میانی برگ به روش CTAB تغییریافته (۱۴)، PCR با استفاده از جفت آغازگر P1 (5'-AAGAGTTTGATCCTGGCTCAGG ATT-3') و P7 (5'-CGTCCTTCATCGGCTCTT-3') (۱۲، ۲۰) انجام شد تا از وجود فایتوپلاسمای عامل بیماری جاروک اطلاع حاصل شود (شکل ۱). جفت آغازگر P1/P7 قطعه‌ای از اپرون RNA ریبوزومی با اندازه تقریبی ۱۸۰۰ جفت‌باز را افزایش می‌دهد. نمونه برگ مورد نظر در فاصله مکانی نوک شاخه تا ده سانتی‌متری محل مایه‌زنی تهیه شد. از یک دانهال مکزیکن‌لایم بدون نشانه در گلخانه و یک درخت مکزیکن‌لایم دارای نشانه‌های بارز بیماری جاروک که پیش از این آلودگی آن به عامل بیماری جاروک لیموترش به اثبات رسیده بود، DNA کل استخراج و از آن‌ها به‌ترتیب به‌عنوان شاهد منفی و مثبت استفاده شد.

واکنش PCR در حجم پایانی ۱۵ میکرولیتر انجام شد به طوری که دارای ۷/۵ میکرولیتر مسترمیکس، ۵/۵ میکرولیتر آب مقطر سترون، ۰/۵ میکرولیتر از هر یک از آغازگرها با غلظت ۱۰ میکرومول و ۱ میکرولیتر DNA استخراج‌شده بود. برنامه دمایی PCR شامل واسرشته‌سازی آغازین در ۹۴ درجه سلسیوس به‌مدت ۳ دقیقه، ۳۵ چرخه شامل واسرشته‌سازی در ۹۴ درجه سلسیوس به‌مدت ۴۰ ثانیه، اتصال آغازگرها در ۵۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه و مرحله گسترش در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۰۵ ثانیه و در پایان ۱۰ دقیقه گسترش نهایی در ۷۲ درجه سلسیوس انجام شد.

۱- Polymerase chain reaction

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-13]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1396.18.3.6.3]

با توجه به عمومی بودن جفت‌آغازگر P1/P7 (۱، ۱۷، ۱۹)، برای شناسایی دقیق فایتوپلاسمای عامل بیماری جاروک، محصول PCR با این جفت آغازگر (۱۸۰۰ جفت‌باز) برای تعیین توالی به شرکت Macrogen در کره‌جنوبی ارسال شد. برای ردیف‌کردن داده‌های حاصل از تعیین توالی نوکلئوتیدی از نرم‌افزار SeqMan 5.00 (۲۱) استفاده و از اطلاعات موجود در بانک ژن (Gene Bank) برای تجزیه و تحلیل بهره گرفته شد.

بررسی نشانه‌های ظاهری نهال‌های مایه‌زنی‌شده، با فاصله زمانی دو روز یک‌بار انجام و تاریخ آغاز رشد جوانه‌های دارای نشانه‌های جاروک ثبت شد. به‌طور کلی، دو ویژگی شمار روز تا شناسایی حضور فایتوپلاسمای عامل بیماری جاروک و شمار روز تا نمایان‌شدن نشانه‌های ظاهری جاروک در گیاهان مایه‌زنی‌شده مورد بررسی قرار گرفت. برای بررسی اثرهای ساده (انفرادی) و برهمکنش پایه و پیوندک، این دو ویژگی در قالب یک طرح بلوک‌های کامل تصادفی به‌صورت فاکتوریل و برای مقایسه ۱۶ ترکیب پایه و پیوندک با چهار پایه دانهالی (در مجموع ۲۰ تیمار) در قالب بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار واکاوی شدند. واکاوی آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح ۵٪ انجام شد.

نتایج

آزمون PCR

برای شناسایی فایتوپلاسما در پیوندک‌های منبع عامل بیماری جاروک و هم‌چنین تیمارهای گوناگون، از آزمون PCR با استفاده از جفت آغازگر P1/P7 استفاده شد و در تیمارهای گوناگون شامل نهال‌های پیوندی و دانهال‌ها و شاهد مثبت قطعه مورد انتظار (۱۸۰۰ جفت باز) افزایش یافت (شکل ۱). محصول PCR در منبع عامل بیماری، تیمارهای گوناگون و شاهد مثبت تعیین ترادف شد و مقایسه میزان همسانی نوکلئوتیدی و جستجو با برنامه BLAST نشان داد که توالی‌های به‌دست‌آمده با یکدیگر ۱۰۰٪ و با عامل بیماری جاروک (رس شمار U15442) ۹۹٪ همسانی نوکلئوتیدی دارند. به‌عنوان نماینده توالی‌ها، توالی مربوط به دانهال مکزیکن‌لایم آلوده شده در این پژوهش با رس شمار MG744313 در بانک جهانی ترادف‌ها ثبت شد.

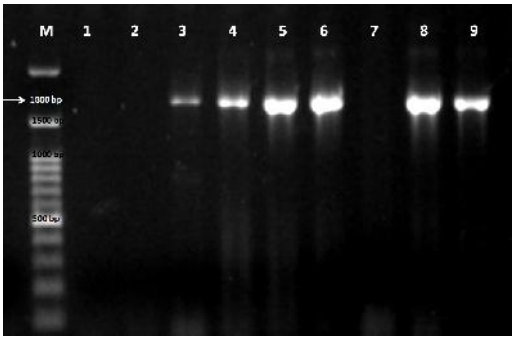

Fig. 1. Agarose gel electrophoresis of PCR products (1800 bp) using primer pair P1/P7. M: Size marker 3kb; Lanes 1 and 2: The grafted IAC and Deperse lime scions on Volkamer lemon rootstock, respectively; Lanes 3 and 4: The grafted IAC and Deperse lime scions on Sour orange rootstock, respectively; Lanes 5 and 6: Bakraei and Mexican lime seedling rootstocks, respectively; Lane 7: Healthy DNA sample (non-inoculated plants) as negative control; Lane 8: Infected Mexican lime as positive control; Lane 9: The grafted IAC scions on Mexican lime rootstock.

شکل ۱- نتیجه الکتروفورز ژل آگارز یک درصد محصول PCR با استفاده از جفت آغازگر P1/P7 (۱۸۰۰ جفت‌باز). M: نشانگر ۳ کیلوجفت بازی؛ راهک‌های ۱ و ۲: به‌ترتیب گیاهان پیوندی IAC و دیپرس‌لایم روی پایه ولکامرلمون، راهک‌های ۳ و ۴: به‌ترتیب گیاهان پیوندی IAC و دیپرس‌لایم روی پایه نارنج، راهک‌های ۵ و ۶: به‌ترتیب پایه‌های دانهالی بکرایی و مکزیکن‌لایم؛ راهک ۷: نمونه DNA سالم (گیاهان مایه‌زنی‌نشده) به‌عنوان شاهد منفی؛ راهک ۸: نمونه مکزیکن‌لایم آلوده به‌عنوان شاهد مثبت و راهک ۹: گیاه پیوندی IAC روی پایه مکزیکن‌لایم.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-13]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1396.18.3.6.3]

شمار روز تا شناسایی حضور فایتوپلاسما در ترکیب‌های پیوندی و دانهال‌های پیوندنشده

نتیجه‌های تجزیه واریانس نشان داد که نوع پایه اثر معنی‌داری در سطح یک درصد بر ویژگی شمار روز تا شناسایی حضور فایتوپلاسمای همراه با بیماری جاروک به‌وسیله PCR داشت. در این رابطه تفاوت معنی‌داری بین نوع پیوندک‌ها و هم‌چنین برهمکنش معنی‌داری بین پایه و پیوندک دیده نشد (جدول ۱). حضور فایتوپلاسما در پیوندک‌ها روی پایه مکزیکن‌لایم ۴۰ روز و در پیوندک‌ها روی پایه ولکامرلمون ۱۱۶ روز پس از مایه‌زنی شناسایی شد. در این رابطه میانگین زمان شناسایی حضور فایتوپلاسما در پیوندک‌ها روی پایه بکرایی ۵۰ روز و روی پایه نارنج ۶۸ روز بود (شکل ۲).

جدول ۱- تجزیه واریانس داده‌های مربوط به شمار روزهای بین زمان مایه‌زنی تا شناسایی حضور فایتوپلاسما در ترکیب‌های پیوندی.

Table 1. Analysis of variance of the number of days between graft inoculation and detection of phytoplasma in the graft combinations.

منابع تغییر S.V	درجه آزادی D.F	میانگین مربعات (M.S) شمار روز تا شناسایی فایتوپلاسما Days to detection of phytoplasma
تکرار Replication	2	339.6**
پایه Rootstock	3	13583.3**
پیوندک Scion	3	5.6ns
پایه × پیوندک Rootstock × Scion	9	11.1ns
خطا Error	30	57.4
ضریب تغییرات C.V%		11.1

ns, ** not significant and significant (P<0.01), respectively.

ns و ** به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح یک درصد.

براساس نتیجه‌های تجزیه واریانس داده‌های مقایسه دانهال‌های پیوند نشده و ترکیب‌های پیوندی از نظر شمار روز تا شناسایی حضور فایتوپلاسما، تفاوت بسیار معنی‌داری بین نهال‌ها دیده شد (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها حاکی از آن بود که حضور فایتوپلاسما در دانهال‌های مکزیکن‌لایم پس از ۲۷ روز شناسایی شد که با همه دانهال‌ها و ترکیب‌های پیوندی به‌جز پرشین‌لایم روی مکزیکن‌لایم (۳۷ روز) اختلاف معنی‌داری داشت. در رتبه بعد دانهال‌های بکرایی قرار داشتند که حضور فایتوپلاسما در آن‌ها پس از ۴۰ روز شناسایی شد که تفاوت معنی‌داری با ترکیب‌های پیوندی روی پایه بکرایی و مکزیکن‌لایم نداشتند. حضور فایتوپلاسما در دانهال‌های نارنج پس از ۵۷ روز شناسایی شد که از نظر آماری تفاوتی با ترکیب‌های پیوندی روی پایه بکرایی (۵۰ روز) و نیز نهال‌های پیوندی IAC، دیپرس‌لایم و پرشین‌لایم روی پایه نارنج (۶۷ روز) نداشتند. حضور فایتوپلاسما در دانهال‌های ولکامرلمون پس از ۹۳ روز شناسایی شد که تفاوت معنی‌داری با همه دانهال‌ها و ترکیب‌های پیوندی نشان داد. در این بین حضور فایتوپلاسما در پیوندک‌ها روی پایه ولکامرلمون (۱۱۳ تا ۱۱۷ روز) دیرتر از همه دانهال‌ها و دیگر ترکیب‌های پیوندی شناسایی شد (جدول ۳).

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-13]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1396.18.3.6.3]

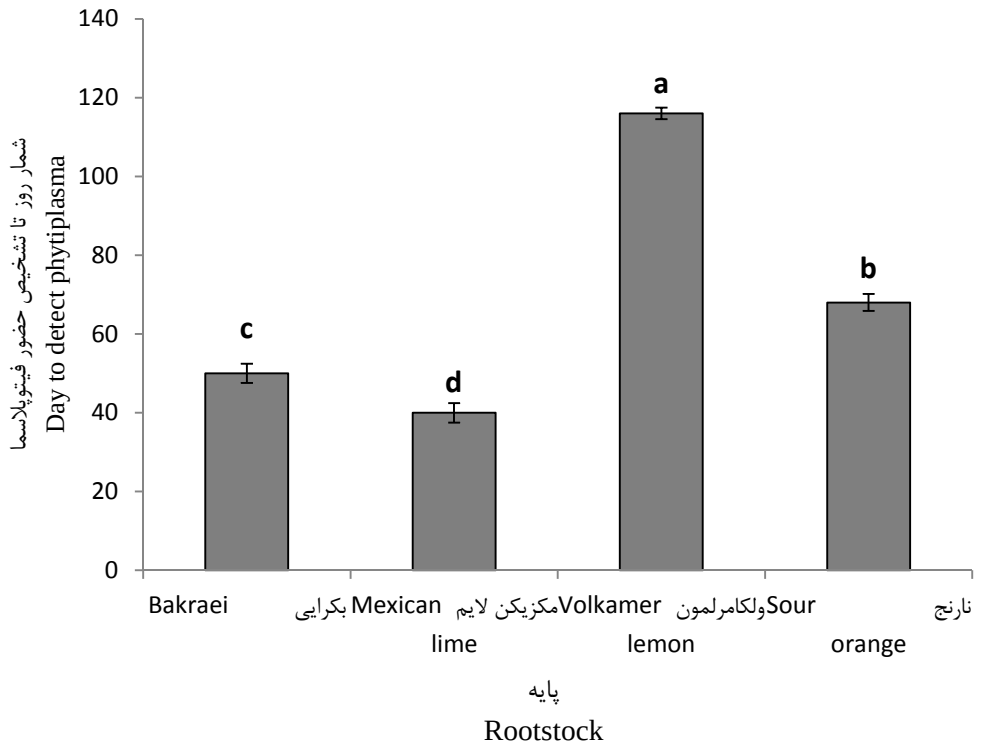

Fig. 2. Mean comparison of the number of days between graft inoculation and detection of phytoplasma in the scions influenced by different rootstocks [Columns with similar letters, do not have significant differences according to LSD (p<0.05)].

شکل ۲- مقایسه میانگین شمار روز از مایه‌زنی با عامل بیماری جاروک تا شناسایی حضور فایتوپلاسما در پیوندک زیر تأثیر پایه‌های گوناگون (ستون‌های دارای حرف‌های مشترک، اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد آزمون LSD با هم ندارند.).

جدول ۲- تجزیه واریانس داده‌ها در رابطه با شمار روز بین زمان مایه‌زنی تا شناسایی فایتوپلاسما در دانهال‌ها و ترکیب‌های پیوندی.

Table 2. Analysis of variance of the number of days between graft inoculation and detection of phytoplasma in seedling rootstocks and graft combinations.

منابع تغییر S.V	درجه آزادی D.F	میانگین مربعات (M.S) شمار روز تا شناسایی فایتوپلاسما Day until detection of phytoplasma
تکرار Replication	2	260.0*
گروه تیماری Treatment	19	2646.6**
خطا Error	38	54.7
ضریب تغییرات C.V%		11.3

*, ** significant in P< 0.05 and P<0.01, respectively.

* و ** به‌ترتیب معنی‌دار در سطح پنج و یک درصد.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-13]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1396.18.3.6.3]

جدول ۳- مقایسه میانگین شمار روز بین زمان مایه‌زنی تا شناسایی فایتوپلاسما در دانهال‌ها و ترکیب‌های پیوندی.

Table 3. Mean comparison of the number of days between graft inoculation and detection of phytoplasma in seedling rootstocks and graft combinations.

پایه × پیوندک/دانهال Rootstock × Scion/Seedling	ویژگی Trait	میانگین شمار روز بین مایه‌زنی تا شناسایی حضور فایتوپلاسما Average of the number of days between graft inoculation and detection of phytoplasma
بکرایی Bakraei	IAC	†50^{ef}
	تاهیتی‌لایم Tahiti lime	50^{ef}
	دیپرس‌لایم Deperse lime	50^{ef}
	پرشین‌لایم Persian lime	50^{ef}
مکزیکن‌لایم Mexican lime	IAC	40^{fg}
	تاهیتی‌لایم Tahiti lime	40^{fg}
	دیپرس‌لایم Deperse lime	43^{fg}
	پرشین‌لایم Persian lime	37^{gh}
ولکامرلمون Volkamer lemon	IAC	117^{a}
	تاهیتی‌لایم Tahiti lime	117^{a}
	دیپرس‌لایم Deperse lime	113^{a}
	پرشین‌لایم Persian lime	117^{a}
نارنج Sour orange	IAC	67^{cd}
	تاهیتی‌لایم Tahiti lime	70^{c}
	دیپرس‌لایم Deperse lime	67^{cd}
	پرشین‌لایم Persian lime	67^{cd}
دانهال بکرایی Bakraei seedling		40^{fg}
دانهال مکزیکن‌لایم Mexican lime seedling		27^{h}
دانهال ولکامرلمون Volkamer lemon seedling		93^{b}
دانهال نارنج Sour orange seedling		57^{de}

†Means in each columns having similar letters, have not significant difference according to LSD ($p<0.05$).

†میانگین‌های موجود در هر ستون که دستکم دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح پنج درصد آزمون LSD اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-13]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1396.18.3.6.3]

شمار روز تا نمایان شدن نشانه‌های جاروک

تا پایان زمان آزمایش، هیچ‌گونه نشانه ظاهری جاروک در ترکیب‌های پیوندی دیده نشد. براساس نتیجه‌های تجزیه واریانس داده‌ها، تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد بین دانهال‌ها از نظر مدت زمان نمایان شدن نشانه‌های جاروک وجود داشت (جدول ۴).

جدول ۴- تجزیه واریانس داده‌ها در رابطه با شمار روز بین زمان مایه‌زنی تا نمایان شدن نشانه‌های جاروک در دانهال پایه‌ها.

Table 4. Analysis of variance of the number of days between graft inoculation and appearance of WBDL symptoms in the rootstock seedlings.

منابع تغییر S.V	درجه آزادی D.F	میانگین مربعات (M.S) شمار روز تا نمایان شدن نشانه‌های جاروک Day to appearance of WBDL symptoms
تکرار Replication	2	12.3^{ns}
دانهال Seedling	3	16411.0^{**}
خطا Error	6	20.3
	ضریب تغییرات C.V%	5.8

ns, **: not significant and significant (P<0.01), respectively.

ns و ** به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح یک درصد.

در مقایسه دانهال‌ها، نشانه‌های جاروک در دانهال‌های مایه‌زنی‌شده مکزیکن‌لایم (۵۴ روز) زودتر از دیگر دانهال‌ها دیده شد. پس از آن، نشانه‌ها در دانهال‌های بکرایی (۸۲ روز) و سپس در دانهال‌های نارنج (۱۷۷ روز) دیده شد. تا پایان زمان آزمایش نشانه‌های جاروک در دانهال‌های ولکامرلمون دیده نشد (جدول ۵).

جدول ۵- مقایسه دانهال پایه‌ها از نظر میانگین شمار روز بین مایه‌زنی با پیوند تا نمایان شدن نشانه‌های بیماری جاروک.

Table 5. A comparison of the rootstock seedlings in relation to mean of the number of days between graft inoculation and appearance of WBDL symptoms.

دانهال Seedling	بکرایی Bakraei	مکزیکن‌لایم Mexican lime	ولکامرلمون Volkamer lemon	نارنج Sourorange
میانگین شمار روز تا نمایان شدن نشانه‌های جاروک Mean of the number of days to appear of WBDL symptoms	82^{b}	54^{c}	–	177^{a}

†Means with similar letters, do not have significant difference according to LSD (p<0.05).

†میانگین‌هایی که دستکم دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح پنج درصد آزمون LSD اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

بحث

با استفاده از PCR حضور فایتوپلاسما در پیوندک‌ها روی پایه ولکامرلمون و همچنین در دانهال‌های ولکامرلمون دیرتر از دیگر دانهال‌ها و ترکیب‌های پیوندی شناسایی شد. در مقابل، در پایه‌های دانهالی مکزیکن‌لایم

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-13]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1396.18.3.6.3]

و بکرایی و نیز در ترکیب‌های پیوندی روی این دو پایه، حضور فایتوپلاسما زودتر از دیگر دانهال‌ها و ترکیب‌های پیوندی شناسایی شد. به نظر می‌رسد تأخیر در شناسایی حضور فایتوپلاسما در پایه ولکامرلمون به خاطر پایین بودن رقت فایتوپلاسما در این پایه باشد. برای تعیین دقیق رقت فایتوپلاسما باید از Real-time PCR (۹) استفاده کرد. ردیابی دیرتر عامل بیماری در ولکامرلمون و ترکیب‌های پیوندی پرشین‌لایم در مقایسه با بکرایی و مکزیکن‌لایم می‌تواند ناشی از تحمل آن‌ها به بیماری جاروک باشد. پایه مکزیکن‌لایم به‌دلیل دسترسی آسان به بذر (حاصل از آب‌گیری میوه) و نیز دارابودن خاصیت چندرویانی و رشد رویشی مناسب، به عنوان پرکاربردترین پایه مرکبات در جنوب ایران شناخته می‌شود (۴). اما حساسیت این پایه به گموز مرکبات و نیز بیماری جاروک و هم‌چنین تحمل متوسط به خاک‌های قلیایی (۶)، مدتی است استفاده از آن را زیر تأثیر خود قرار داده است. پایه ولکامرلمون به‌دلیل تحمل بهتر عامل بیماری جاروک، مقاومت مناسب به خاک‌های قلیایی و رشد رویشی بسیار خوب به‌عنوان یک پایه امیدبخش در جنوب ایران مطرح است (۲، ۴).

در این پژوهش، نشانه‌های جاروک تنها در دانهال‌های مکزیکن‌لایم، بکرایی و نارنج دیده شد و در دانهال ولکامرلمون و ترکیب‌های پیوندی تا پایان زمان آزمایش نشانه‌ای دیده نشد. ردیابی دیرتر عامل بیماری (یکی از نتیجه‌های همین پژوهش) و رخ ندادن نشانه‌های بیماری جاروک در ولکامرلمون و پرشین‌لایم نشان می‌دهد این دو گونه متحمل به بیماری جاروک لیموترش می‌باشند. ولکامرلمون جایگزین مناسبی برای مکزیکن‌لایم به‌عنوان پایه و پرشین‌لایم جایگزین مناسبی برای مکزیکن‌لایم به‌عنوان یک گونه تجاری در مناطق آلوده می‌باشد. در ایران در صورتی‌که بیماری جاروک مطرح نباشد، مکزیکن‌لایم به دلایل گوناگون به‌ویژه از نظر اشتغال‌زایی، میزان محصول، سازگار بودن با آب و هوا و خاک‌های جنوبی و بازار مصرف برتری نسبی بر پرشین‌لایم دارد و جایگزینی این محصول با پرشین‌لایم امری غیرممکن است.

اگر چه از راه مایه‌زنی با پیوندک آلوده، نشانه‌های بیماری در دانهال‌های نارنج دیده شد ولی در شرایط طبیعی حتی در شرایط آلودگی شدید، تاکنون نشانه‌های بیماری جاروک در درختان نارنج گزارش نشده است. به نظر می‌رسد در شرایط طبیعی، نارنج میزبان مناسبی برای زنجرک ناقل بیماری جاروک (*Hishimonus phycitis*) نباشد (۷). پیشتر هم حساسیت پایه‌های مکزیکن‌لایم، بکرایی و نارنج و تحمل ولکامرلمون به بیماری جاروک لیموترش گزارش شده است (۸) و تأییدی بر نتیجه‌های این پژوهش می‌باشد. در این پژوهش برای اولین بار نژادگان‌های گوناگون پرشین‌لایم از نظر واکنش به عامل بیماری جاروک با یکدیگر مقایسه شدند و تحمل آن‌ها به‌ویژه وقتی روی پایه ولکامرلمون پیوند شوند، به اثبات رسید.

نتیجه‌گیری

در بررسی برهمکنش پایه و پیوندک، کشت درختان پرشین‌لایم شامل نژادگان‌های IAC، تاهیتی‌لایم، پرشین‌لایم و دیپرس‌لایم روی پایه ولکامرلمون، به‌عنوان بهترین ترکیب‌های پیوندی برای مناطق آلوده به بیماری جاروک لیموترش معرفی می‌شوند.

منابع References

۱. آزادوار، م.، س. رنجبر، م. نجفی‌نیا، و ک. بارانول. ۱۳۹۳. اولین گزارش از آلودگی طبیعی بالنگ (*Citrus medica* L.) به '*Candidatus* Phytoplasma aurantifolia' در ایران. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۲۲-۶: (۴)۱۵.

۲. توکلی، ا. ۱۳۹۱. بررسی اثر پایه‌های مختلف بر خواص کمی و کیفی سه رقم لایم شامل پرشین‌لایم، مکزیکن‌لایم و لایم‌بی‌تیغ. گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی. موسسه تحقیقات مرکبات کشور، شماره ثبت ۴۲۶۸۴. ۳۲ ص.

۳. حسن‌زاده خانکهدانی، ح. ۱۳۹۵. مطالعه سازگاری و عملکرد ارقام جدید لایم و مقایسه آن با لیسبون لمون در منطقه حاجی‌آباد هرمزگان (فاز اول: رویشی). گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی. پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. ۳۵ ص.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-13]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1396.18.3.6.3]

۴. حسن‌زاده خانکهدانی، ح.، ا. حسن‌پور و ع. ابوطالبی. ۱۳۸۵. تاثیر پایه‌های مختلف بر میزان رشد رویشی، وزن خشک و ترکیبات معدنی پیوندک لیموآب (*Citrus aurantifolia* Swingle). نهال و بذر، ۱۶۴-۱۵۵: (۲)۲۲.
۵. حسن‌زاده خانکهدانی، ح.، م. گل‌محمدی و ب. گلعین. ۱۳۹۵. پرشین‌لایم (*Citrus latifolia* Tanaka). نشریه فنی شماره ۴۹۹۶۴، کمیته انتشارات پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. ۲۰ ص.
۶. رادنیا، ح. ۱۳۷۵. پایه‌های درختان میوه. نشر آموزش کشاورزی. ۶۳۷ ص.
۷. صالحی، م.، ع. باقری، م.م. فقیهی و ک. ایزدپناه. ۱۳۹۶. تعیین برخی ویژگی‌های زیستی و رفتاری زنجرک *Hishimonus phycitis*، ناقل بیماری جاروک لیموترش با هدف مدیریت بیماری. مجله بیماری‌های گیاهی، ۷۵-۹۶: (۱)۵۳.
۸. صالحی، م.، ن. نجات، ا. توکلی و ک. ایزدپناه. ۱۳۸۴. واکنش ارقام مرکبات به فایتوپلاسمای عامل جاروک لیموترش در ایران. مجله بیمارهای گیاهی. ۳۷۶-۳۶۳ :۴۱.
9. Askari, N., G. Salehi-Jouzani, M. Mousivand, A. Foroutan, A. Hagh-Nazari, A. Abbasalizadeh, S. Soheilivand and M. Mardi. 2011. Evaluation of anti-phytoplasma properties of surfactin and tetracycline towards lime witches' broom disease using Real-Time PCR. J. Microbiol. Biotechnol. 21(1):81-88.
10. Cantuarias-Aviles, T., F.A.A.M. Filhoa, E.S. Stuchi, S.R. da-Silva, E. Espinosa-Nuneza and H.B. Neota. 2012. Rootstocks for high fruit yield and quality of Tahiti lime under rain-fed conditions. Sci. Hort. 142:105-111.
11. Crane, J.H. and J.L. Osborne. 2013. Growing Tahiti lime in the home landscape. University of Florida. IFAS Ext. 12 p.
12. Deng, S. and C. Hiruki. 1991. Amplification of 16S rRNA genes from culturable and non-culturable mollicutes. J. Microbiol. Meth. 14:53-61.
13. Djavaheri, M. and H. Rahimian. 2004. Witches' broom of Bakraee (*Citrus reticulata* hybrid) in Iran. Plant Dis. 88:683.
14. Faghihi, M.M., A.N. Bagheri, H.R. Bahrami, H. Hasanzadeh, R. Rezazadeh, M. Siampour, S. Samavi, M. Salehi and K. Izadpanah. 2011. Witches' broom disease of lime affects seed germination and seedling growth but is not seed transmissible. Plant Dis. 95(4):419-422.
15. Garnier, M., L. Zreik and J.M. Bové. 1991. Witcheś-broom, a lethal mycoplasmal disease of lime trees in the Sultanate of Oman and the United Arab Emirates. Plant Dis. 75:546-551.
16. Hassanzadeh Khankahdani, H., S. Rastegar, B. Golein, M. Golmohammadi and A. Aboutalebi. 2017. Genetic diversity in Persian lime (*Citrus latifolia* Tanaka) accessions using morphological and molecular markers. Agr. For. 63(3):221-231.
17. Lou, B., X. Bai, Y. Bai, C. Deng, M. RoyChowdhury, C. Chen and Y. Song. 2013. Detection and molecular characterization of a 16SrII-A Phytoplasma in Grapefruit (*Citrus paradisi*) with Huanglongbing-like symptoms in China. J. Phytopathol. DOI:0.1111/jph. 12200.
18. Najafiniya, M. and M. Azadvar. 2016. Witches broom disease of lime and its management. Indian Phytopathol. 69(4s):330-332.
19. Nikooei, M., C. Hemmati and A. Bagheri. 2017. Association of '*Candidatus* Phytoplasma aurantifolia'with *Cosmos bipinnatus* phyllody disease in Iran. J. Plant Protection Res. 57(3):314-317.
20. Schneider, B., E. Seemüller, C.D. Smart and B.C. Kirkpatrick. 1995. Phylogenetic classification of plant pathogenic mycoplasma-like organisms or phytoplasmas. In: Razin, S. and J.G. Tully eds. Molecular and Diagnostic Procedures in Mycoplasmology. New York, USA: Academic Press 2:369-80.
21. Zakipour-Molkabadi, E., Z. Hamidi-Esfahani, M.A. Sahari and M.H. Azizi. 2013. A new native source of *Tannase* producer, *Penicillium* sp. EZ-ZH190: Characterization of the enzyme. Iranian J. Biotech. 11(4): 244-250.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-13]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1396.18.3.6.3]

Iranian Journal of Horticultural Science and Technology 18 (3):305-314 (2017)

Effect of Rootstock on Witches' Broom Disease of Lime in Scions of Different Persian Lime (*Citrus latifolia* Tanaka) Genotypes

H. Hassanzadeh Khankahdani, S. Rastegar*, B. Golein, M. Golmohammadi and A. Aboutalebi Jahromi[1]

In order to assess the effect of different rootstocks on reaction of scions of Persian lime genotypes against withces' broom disease of lime (WBDL), an experiment was conducted as factorial arrangement in randomized complete block design with two factors including rootstock (Bakraei, Mexican lime, Volkamer lemon and Sour orange) and scion (IAC, Tahitian lime, Deperse lime and Persian lime) in Agricultural Research Station of Minab during 2014-2017. The grafted plants were produced via T-budding. Reactions of the grafted plants and seedlings was evaluated via graft inoculation with Mexican lime scion infected with WBDL phytoplasma. Based on PCR assays, detection of WBDL phytoplasma was the earliest (40 days post inoculation) in the scions on Mexican lime rootstock and the latest (116 days post inoculation) in the scions on Volkamer lemon rootstock. Symptoms of WBDL were observed in all seedlings except Volkamer lemon and during the course of this study it was not observed in the grafted plants. The time between graft inoculation and WBDL sypmtoms appearance was shortest in Mexican lime seedlings. Totally, Volkamer lemon rootstock is introduced as the best rootstock for Persian lime genotypes in the WBDL-infected areas.
Keywords: Inoculation, Persian lime genotypes, Phytoplasma, Volkamer lemon.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-12-13]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1396.18.3.6.3]

1. Ph.D. Student of Physiology and Breeding of Fruit Trees, Department of Horticultural Science, Agriculture and Natural Resource College, Hormozgan University and Researcher of Horticulture Crops Department, Agriculture and Natural Resources Research and Education Center of Hormozgan, Assistant Professor of Department of Horticultural Science, Agriculture and Natural Resource College, University of Hormozgan, Associate Professor and Assistant Professor of Citrus and Subtropical Fruits Research Center, Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Ramsar and Associate Professor of Islamic Azad University, Horticulture Department, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran, respectively.

* Corresponding author, Email: (srastegar2008@gmail.com).