شانزدهمین کنگره علوم خاک ایران

دانشگاه زنجان، ۵ تا ۷ شهریور ۱۳۹۸

محور مقاله: حاصلخیزی خاک، تغذیه گیاه و کشت گلخانه‌ای

اثر آلودگی فیتوپلاسمایی بر غلظت عناصر غذایی و ویژگی‌های بیوشیمیایی در برگ مکزیکن‌لایم

طاهره رئیسی[1*]

[1] استادیار پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رامسر، ایران.

چکیده

بیماری جاروک لیموترش، که توسط *Candidatus* Phytoplasma aurantifolia ایجاد می‌شود، مهم‌ترین عامل محدودکننده تولید لیموترش در مناطق جنوبی ایران است. بنابراین تحقیق حاضر با هدف بررسی تغییرات برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی و غلظت عناصر غذایی در برگ نهال‌های مکزیکن‌لایم آلوده‌شده با فیتوپلاسما تحت شرایط گلخانه‌ای انجام شد. بدین‌منظور، قلمه‌هایی از نهال سالم مکزیکن‌لایم تهیه شد. پس از سه ماه، نیمی از قلمه‌های مکزیکن‌لایم با استفاده از پیوندک پوست از نهال آلوده به بیماری‌گر فیتوپلاسما آلوده شدند. پس از گذشت یک‌سال از آلودگی نهال‌ها با فیتوپلاسما، تعدادی برگ از نهال‌های سالم و آلوده نمونه‌برداری شد و فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز، کربوهیدرات محلول و نشاسته در این برگ‌ها اندازه‌گیری شد. علاوه‌براین، غلظت عناصر غذایی شامل نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، بور، آهن، منگنز، روی و مس نیز در این برگ‌ها اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد آلودگی با فیتوپلاسما غالباً منجر به افزایش معنی‌دار مقدار کربوهیدرات محلول و نشاسته در برگ شد. همچنین، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در برگ گیاهان آلوده در مقایسه با گیاهان سالم به‌ترتیب افزایش و کاهش یافت. علاوه براین، بررسی غلظت عناصر غذایی در برگ گیاهان نشان داد که آلودگی با فیتوپلاسما منجر به کاهش معنی‌دار نیتروژن، کلسیم، بور و منگنز در برگ گیاهان آلوده و منجر به افزایش معنی‌دار غلظت فسفر، پتاسیم، منیزیم، آهن، روی و مس در برگ گیاهان آلوده شد. به‌طور کلی نتایج مطالعه حاضر بینشی جدید در مورد پاسخ مکزیکن‌لایم به بیماری‌گر فیتوپلاسما فراهم نموده و در اتخاذ راهکارهای در جهت بازتوانی و افزایش عمر اقتصادی درختان آلوده به جاروک می‌تواند مفید باشد.

کلمات کلیدی: آنتی‌اکسیدان، بور، کربوهیدرات، کلسیم، منگنز، نیتروژن

مقدمه

فیتوپلاسماها، پروکاریوت بیماری‌گر گیاهی از دسته مالیکیوت‌ها هستند که دیواره سلولی ندارند و آلودگی‌شان از نوع سیستمیک و کنترل آن مشکل می‌باشد. این بیماری‌گر عمدتاً در آوند آبکش مستقر بوده و غالباً از طریق حشراتی که از شیره آوند آبکش تغذیه می‌کنند، به گیاه میزبان منتقل می‌شوند. تا کنون در هیچ تحقیق آزمایشگاهی امکان کشت فیتوپلاسما در محیط عاری از سلول محقق نشده و همین امر پیشرفت در زمینه مطالعه‌ی کنش‌های احتمالی فیتوپلاسما با گیاه میزبان و مطالعه صدماتی که به گیاه میزبان وارد می‌سازد را مشکل ساخته است (Christensen و همکاران، ۲۰۰۵).

اثر گسترده‌ی *Candidatus* Phytoplasma aurantifolia، عامل ایجاد بیماری جاروک (Witches' Broom Disease of Lime, WBDL)، منجر به کاهش سودآوری اقتصادی (بیش از ۷۰٪ تاکنون) در مکزیکن‌لایم تولیدشده در کشورهای امارات، عمان و ایران شده است (Salehi و همکاران، ۱۹۹۷). در این بیماری اندازه برگ‌ها کوچک شده و برگ‌ها دچار کلروز می‌شوند. هم‌چنین، یکی دیگر از علایم ظاهری این بیماری، کاهش فاصله میانگره‌ها و ایجاد جست‌های نازک ثانویه می‌باشد (Zafari و همکاران، ۲۰۱۲). در نهایت فیتوپلاسما در مدت ۵-۳ سال منجر به مرگ درختان آلوده می‌شود. این بیماری‌گر بواسطه‌ی اثر بر فرایندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی (Abdollahi و همکاران، ۲۰۱۳) و نیز اثر بر بیان ژن (Giorno و همکاران، ۲۰۱۲) ممکن است به گیاه میزبان ضرر برساند. همچنین، فیتوپلاسماها عمدتاً در آوند آبکش غنی از عناصر غذایی و کربوهیدرات‌های گیاه میزبان مستقر است و زندگی آن وابسته به مواد تأمین شده توسط گیاه میزبان می‌باشد (Lepka و همکاران، ۱۹۹۹). هم‌چنین، ضمن ایجاد محدودیت در انتقال از طریق آوند آبکش (به دلیل رسوب کالوز در آوند)، احتمالاً در بارگیری ساکارز در آوند آبکش نیز اختلال ایجاد می‌کند (Himeno و همکاران، ۲۰۱۴). بنابراین طبق فرضیه ذکر شده، این بیماری می‌تواند دارای یک اثر ثانویه نیز باشد. در واقع احتمالاً آلودگی با

* ایمیل نویسنده مسئول: t.raieis@areeo.ac.ir

فیتوپلاسما بر توزیع مواد و متابولیت‌های که توزیع آنها از نحوه جریان در آوند آبکش تبعیت می‌کند، اثر گذار است و این آلودگی می‌تواند بر جذب و انتقال عناصر غذایی در گیاه میزبان نیز مؤثر باشد. در بیشتر مطالعات انجام شده در زمینه اثر آلودگی فیتوپلاسما بر گیاه میزبان به بررسی ساخت، توزیع و مصرف کربوهیدرات‌ها در گیاه میزبان به دنبال آلودگی با فیتوپلاسما پرداخته شده است و اطلاعاتی در مورد اثر آلودگی فیتوپلاسمایی بر توزیع عناصر غذایی در گیاه میزبان و ارتباط بین تغییرات ایجاد شده در گیاه آلوده چه به لحاظ ریخت‌شناسی و چه به لحاظ متابولیکی با تغییرات غلظت عناصر غذایی در بافت‌های گیاه آلوده در دسترس نمی¬باشد. حال سوالی که پیش می‌آید این است که آیا نحوه توزیع عناصر غذایی در گیاه نیز متأثر از فیتوپلاسما می‌باشد؟ بنابراین تحقیق حاضر با هدف بررسی تغییرات برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی و غلظت عناصر غذایی در برگ نهال‌های ریشه‌دار مکزیکن‌لایم آلوده‌شده با فیتوپلاسما و مکزیکن‌لایم سالم یک‌سال پس از آلودگی تحت شرایط گلخانه‌ای انجام شد.

مواد و روش‌ها

به منظور پایش ترکیبات بیوشیمیایی و غلظت عناصر غذایی در برگ مکزیکن‌لایم طی پیشرفت بیماری جاروک، یک آزمایش گلخانه‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی روی مکزیکن‌لایم طی یک دوره زمانی ۱۸ ماهه انجام شد. بدین‌منظور در آذر سال ۱۳۹۴، ۸۰ قلمه یکدست از نهال سالم و عاری از بیماری مکزیکن‌لایم (*Citrus aurantifolia* Swingle) تهیه و در ده گلدان کشت شد. در اسفند ۹۴ پس از اطمینان از ریشه‌دهی قلمه-ها، هر یک از آنها به گلدان¬های جداگانه پلاستیکی حاوی کوکوپیت و پرلایت اتوکلاوشده با نسبت ۲ به ۱ منتقل شدند. پس از یک‌ماه از انتقال قلمه‌ها ، دو مرتبه در هر هفته با ۲۵۰ میلی¬لیتر محلول غذایی یک چهارم هوگلند اصلاح‌شده آبیاری شدند. در ادامه غلظت محلول غذایی برای آبیاری به یک دوم و سپس به محلول غذایی کامل افزایش یافت. مازاد بر این، هر یک از گلدان‌ها دو مرتبه در هر هفته نیز با ۲۵۰ میلی‌لیتر آب شهری آبیاری شدند. تمامی مراقبت‌های لازم مانند آبیاری، تغذیه، تنظیم نور و رطوبت برای تمامی تیمارها به طور یکسان اعمال شد. در اول خرداد سال ۱۳۹۵ از یک نهال لیموترش آلوده به فیتوپلاسمای جاروک لیموترش موجود در گلخانه پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری به عنوان منبع پیوندک آلوده برای مایه‌زنی نهال‌های مورد آزمایش استفاده شد. نهال مزبور قبلاً از طریق پیوندک از لیموترش آلوده به جاروک آلوده شده و علایم تیپیک بیماری را نشان می‌داد. لازم به ذکر است قبل از انجام پیوند، وجود بیماری در این نهال توسط آزمون پی‌سی‌آر و با استفاده از جفت آغازگرهای عمومی و اختصاصی تأیید شد (شکل ۱، چاهک ۲ و ۳). در این مرحله، نیمی از قلمه‌ها با پیوندک آلوده به عامل بیماری و نیمی دیگر با پیوندک سالم پیوند پوست زده و مایه‌زنی شدند. به منظور حفظ رطوبت، نهال‌های پیوند شده به مدت یک ماه در کیسه‌های پلاستیکی قرار داده شدند. هر ماه پس از آلوده‌سازی، آزمون PCR برای مشخص شدن قلمه‌های آلوده شده به بیماری جاروک انجام شد. برای این کار ابتدا DNA از رگبرگ به وسیله‌ی محلول CTAB استخراج و سپس با کمک پی‌سی‌آر و به‌وسیله جفت آغازگرهای عمومی P1/P7 و R16F2n/R16R2 وجود بیمارگر در قلمه‌های آلوده شده و فقدان آن در قلمه‌های سالم بررسی شد. در اول شهریور ۹۵ نتیجه آزمون پی‌سی‌آر در تعدادی از نهال‌ها مثبت بود (شکل ۱).

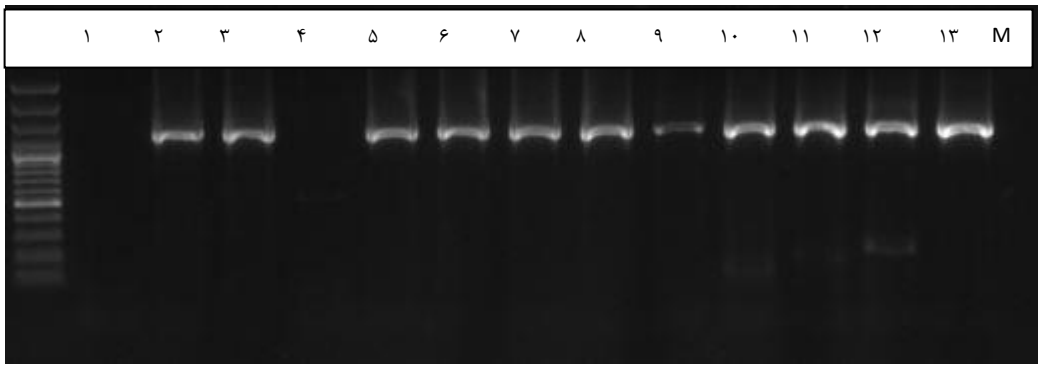
در پایان دوره رشد، برگ‌هایی از یک موقعیت در شاخسار شش گیاه آلوده و شش گیاه سالم برداشت شد. نمونه‌های برگ بلافاصله در ازت مایع منجمد و در دمای ۸۰- سلسیوس در فریزر به منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیدیسموتاز و پراکسیداز نگهداری شدند. علاوه بر شاخص‌های ذکر شده قندهای محلول، نشاسته و عناصر غذایی نیز در نمونه‌های برگ خشک‌شده در آون، اندازه‌گیری شدند. برای سنجش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و پراکسیداز (POD) به‌ترتیب از روش‌های Beauchamp و همکاران (۱۹۷۱) و Chance و همکاران (۱۹۵۵) استفاده شد. قندهای محلول با استفاده از محلول اتانول ۸۰ درصد استخراج و به روش فنل اندازه‌گیری شدند. برای استخراج نشاسته از اسید پرکلریک ۵۲ درصد استفاده و نشاسته در محلول استخراجی به روش آنترون اندازه‌گیری شد. به منظور اندازه گیری عناصر غذایی، نمونه برگ‌های خشک شده در آون با استفاده از آسیاب برقی پودر شدند. سپس، نمونه‌های پودر شده به روش خاکستر خشک هضم و مقدار فسفر، پتاسیم، کلسیم، آهن، منگنز، روی و مس موجود در نمونه‌های هضم شده تعیین شد .(Kalra, 1998) کلسیم به روش کمپلکسومتری، پتاسیم به روش شعله‌سنجی با دستگاه فلیم فتومتر، فسفر به روش رنگ‌سنجی و عناصر کم‌نیاز با استفاده از دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شدند.

وجود اختلاف بین هر یک از پارامترهای مورد بررسی شامل فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز و پراکسیداز،کربوهیدرات محلول، نشاسته و عناصر غذایی در برگ‌های نمونه‌برداری شده از شش گیاه آلوده و شش گیاه سالم با استفاده از آزمون t در سطح احتمال ۹۵ درصد ($p<0.05$) بررسی شد. کلیه تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار STATISTICA نسخه ۱۰ انجام شد.

نتایج و بحث

بررسی وجود فیتوپلاسما در نهال‌های مکزیکن‌لایم:

بررسی نتایج آزمون پی‌سی‌ار روی ژل آگارز یک درصد، سه ماه پس از انجام مایه‌زنی، نشان داد که در نمونه‌های مربوط به برخی از نهال‌ها پس از انجام مایه‌زنی (شکل ۱، چاهک‌های ۱۳-۵) و در نمونه‌های کنترل مثبت که مربوط به نهالی است که پیوندک از آن گرفته شده بود، باند مورد نظر در ژل مشاهده شد (شکل ۱، چاهک‌های ۲ و ۳). در ادامه کار از نهال‌های مزبور جهت پایش ترکیبات بیوشیمیایی استفاده گردید.



شکل ۱- محصول PCR نمونه‌ها سه ماه پس از مایه‌زنی (چاهک‌های ۱۳-۵: نمونه‌ها پس از مایه‌زنی؛ چاهک ۱: کنترل منفی؛ چاهک ۴: کنترل سالم؛ چاهک ۲ و ۳: کنترل مثبت و M: مارکر (۱۰۰ جفت باز). باند مورد نظر (۱۲۰۰ جفت‌باز) در چاهک‌های ۱۳-۵ و ۳-۲ مشاهده شد.

تغییرات ریخت‌شناسی در گیاهان آلوده: در ماه چهارم از زمان آلوده‌سازی، علایم تیپیک بیماری جاروک در تعدادی از شاخه‌های برخی از نهال‌های آلوده مشاهده شد. در ماه‌های بعد گستره و شدت علایم افزایش یافت. این علایم شامل کوچک شدن اندازه برگ‌ها و دچار کلروز شدن این بافت‌ها بود. هم‌چنین، یکی دیگر از علایم ظاهری مشاهده شده در گیاهان آلوده شده به این بیمارگر کاهش فاصله میانگره‌ها، از بین رفتن تیغ و ایجاد جست‌های نازک ثانویه بود (شکل ۲). علاوه‌بر این، در گیاه آلوده، برگ‌های جوان نسبت به برگ‌ها با سن بالاتر سبزتر بودند و برگ‌های با سن بالاتر حالت سفیدشدگی (بلیچینگ) داشتند. علاوه براین، ریشه در گیاهان آلوده به شدت آسیب دیده بود (شکل ۲).

تغییرات در غلظت عناصر غذایی در برگ گیاه آلوده: نتایج نشان داد که غلظت نیتروژن، بور، منگنز و کلسیم در برگ لیموهای آلوده به فیتوپلاسما در مقایسه با لیموهای سالم به‌ترتیب ۲۵، ۳۸، ۲۶ و ۲۳ درصد کاهش یافت (جدول ۱). غلظت منیزیم، پتاسیم و فسفر در برگ لیمو آلوده در مقایسه با لیمو سالم به‌ترتیب ۷۵، ۲۵ و ۱۷ درصد افزایش یافت. بررسی غلظت عناصر میکرو در برگ لیمو نشان داد که آلودگی با فیتوپلاسما منجر به افزایش ۸۶، ۳۱ و ۹ درصدی در غلظت آهن، روی و مس در برگ لیمو شد (جدول ۱).

جدول ۱- غلظت عناصر غذایی در برگ گیاه آلوده و سالم

نهال	مس	روی	منگنز	آهن	بور	منیزیم	کلسیم	پتاسیم	فسفر	نیتروژن
	میلی‌گرم بر کیلوگرم					درصد				
سالم	۵/۲۸±۳/۲۵ a	۴۰/۱±۰/۹۵ b	۶۱/۲±۵/۷۴a	۸۷/۷±۵/۴۰ b	۱۴۶±۱۲/۸ a	۰/۸۰±۰/۱۱ b	۵/۳۶±۰/۱۵a	۱/۵۵±۰/۱۲ b	۰/۱۷±۰/۰۰۲ b	۳/۴۵±۰/۰۸ a
آلوده	۵/۷۵±۰/۷۲ a	۵۲/۵±۴/۸۳a	۴۵/۰±۲/۰۰ b	۱۶۴±۲۳/۳a	۹۰/۸±۵/۴b	۱/۴۱±۰/۱۳a	۴/۱۳±۰/۲۸ b	۱/۹۴±۰/۰۹a	۰/۲۰±۰/۰۰۴ a	۲/۶۰±۰/۱۰ b
درصد تغییرات	+۹	+۳۱	-۲۶	+۸۶	-۳۸	+۷۵	-۲۳	+۱۷	+۲۵	-۲۵

* میانگین ± انحراف استاندار شش تکرار

** اعداد سطر آخر نشان‌دهنده درصد تغییر هریک از بخش‌های گیاه آلوده در مقایسه با گیاه سالم می‌باشد (۱۰۰× (سالم-آلوده)/سالم).

الف ب

شکل ۲- تغییرات ریخت‌شناسی نهال‌های آلوده به فیتوپلاسما در پایان پژوهش. الف- شکل شاخسار، ب- شکل ریشه

تغییرات در مقدار ویژگی‌های بیوشیمیایی در برگ گیاه آلوده

همان‌طور که در جدول ۲ آورده شده است فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، پراکسیداز در برگ گیاهان آلوده در مقایسه با گیاهان سالم به‌ترتیب ۶- و ۱۹۳ درصد تغییر یافته است. هم‌چنین مقدار کربوهیدرات محلول، نشاسته، نیز در برگ گیاه آلوده نسبت به گیاه سالم به‌ترتیب ۲۷ و ۲۳ درصد افزایش یافت.

جدول ۲- مقدار ویژگی‌های بیوشیمیایی در برگ گیاه آلوده و سالم

ویژگی	واحد	سالم*	آلوده*	درصد تغییرات**
سوپراکسیددیسموتاز	واحد بر گرم ماده تر	۱۵۱±۳/۳a	۱۴۲±۲/۵b	-۶
پراکسیداز	واحد بر گرم ماده تر در دقیقه	۱۱/۴±۳/۸b	۳۳/۵±۴/۴a	۱۹۳
کربوهیدرات محلول	گرم بر صد گرم ماده خشک	۵/۶±۰/۲۰b	۷/۱۱±۰/۶۳a	۲۷
نشاسته	گرم بر صد گرم ماده خشک	۱۷/۰±۰/۶۹b	۲۱/۰±۰/۸۰a	۲۳

* میانگین ± انحراف استاندار (n=۶)

** اعداد ستون آخر نشان‌دهنده درصد تغییر هریک از بخش‌های گیاه آلوده در مقایسه با گیاه سالم می‌باشد (۱۰۰× (سالم-آلوده)/سالم).

علائم ظاهری لیموهای آلوده نشان‌دهنده‌ی برهم‌خوردگی تغذیه‌ای در این گیاهان می‌باشد. غلظت عناصر فسفر، پتاسیم و منیزیم در برگ گیاهان آلوده بیشتر از مقادیر این عناصر در برگ گیاهان سالم بود. علاوه براین، علائم ظاهری درختان مبتلا به جاروک شبیه علائم کمبود و یا بیش‌بود عناصر ریزمغذی شامل آهن، منگنز، روی و مس می‌باشد. به هر حال آنچه در تحقیق حاضر مشاهده شد حاکی از افزایش غلظت آهن، روی و مس در برگ گیاهان آلوده در مقایسه با گیاهان سالم بود. به دنبال آلودگی با فیتوپلاسما رشد لیموها و مقدار ماده خشک آنها کاهش یافت(نتایج آورده نشده است). به هرحال به نظر می‌رسد در گیاهان آلوده سرعت کاهش رشد این گیاهان بسیار بیشتر از سرعت کاهش جذب فسفر، پتاسیم، منیزیم، آهن، روی و مس توسط این گیاهان باشد، بنابراین، غلظت این عناصر در برگ‌های آلوده افزایش یافت. باید این موضوع را درنظر داشت که کاهش رشد و اندازه لیموهای آلوده ممکن است اثرات سمیت را تشدید کند زیرا یون‌های سمی به دلیل اثر غلظت در سطوح بالاتری در برگ‌های گیاه آلوده تجمع می‌یابند و اثرات تعیین کننده‌ای بر روی رشد و سوخت و ساز گیاه خواهند داشت. علاوه بر موارد ذکر شده باید عنوان کرد که اخیراً پیشنهاد شده که تجمع مقادیر زیادی از فلزات در گیاهان را می‌توان به عنوان یک سازوکار دفاعی این گیاهان در برابر بیماری‌گرها قلمداد کرد (Poschenrieder و همکاران، ۲۰۰۶). بنابراین در این تحقیق، افزایش غلظت آهن، روی و مس را می‌توان به نقش این عناصر در سازوکار دفاعی گیاهان نسبت داد. به‌هرحال، غلظت نیتروژن، کلسیم، بور و منگنز در برگ‌های آلوده کاهش نشان داده است.

کلسیم برای استحکام دیواره سلولی و بافت گیاهی ضروری است. هم‌چنین، کلسیم نقش ساختاری در پایداری غشا و سلول ایفا می‌کند. این نقش اولیه کلسیم بر پایداری غشا ودیواره سلولی، حاکی از نقش مهم یون کلسیم در افزایش مقاومت گیاهان در برابر بیماری‌گرهای گیاهی می‌باشد. علاوه براین، اکثر برهم‌خوردگی‌های سوخت و سازی ناشی از کمبود بور را می‌توان به نقش بور در سنتز دیواره سلولی مرتبط دانست. کمبود بور منجر به تغییرات

مورفولوژیکی و تغییرات در تمایز بافت‌ها در بسیاری گیاهان می‌گردد. کاهش رشد شاخسار علائم ظاهری اولیه کمبود بور در گیاهان است. در اکثر گیاهان داری کمبود بور فاصله میانگره‌ها کم شده و گیاه حالت جارویی پیدا می‌کند.

از سوی دیگر آلودگی با فیتوپلاسما منجر به تجمع معنی‌دار کربوهیدرات و نشاسته در برگ لیمو آلوده شد. این یافته نتایج اخیر در زمینه‌ی تجمع کربوهیدرات‌ها در برگ درختان آلوده به فیتوپلاسما را تائید می‌کند (Zafari و همکاران، ۲۰۱۲).

یون پتاسیم برای فعال‌سازی سنتز نشاسته مورد نیاز است و درمطالعه حاضر مشاهده شد که به دنبال آلودگی با فیتوپلاسما غلظت پتاسیم در برگ لیموهای آلوده ۲۵ درصد افزایش یافته که احتمالاً منجر به افزایش سنتز نشاسته در این برگ‌ها و سپس تجمع نشاسته در این بافت شده است. علاوه براین، مقدار افزایش یافته نشاسته در برگ‌های آلوده در آزمایش حاضر را می‌توان ناشی از کاهش تقاضا برای کربن احیا در ریشه به علت ممانعت از رشد و فعالیت ریشه توسط فیتوپلاسما باشد. هم‌چنین، تجمع کربوهیدرات‌های محلول در برگ گیاهان آلوده می‌تواند ناشی از اثرات ثانویه آلودگی با فیتوپلاسما نیز باشد. طبق منابع موجود احتمالاً فیتوپلاسما باعث ممانعت انتقال متابولیت‌ها از طریق آوند آبکش شده و بدین‌ترتیب منجر به تجمع کربوهیدرات‌ها در برگ‌ها به عنوان اندام‌های تولیدکننده گیاه آلوده شده و نیز تامین قند از برگ‌ها برای ریشه‌ها و دیگر اندام‌های مصرف‌کننده گیاه را کاهش داده و بدین ترتیب باعث تخریب بافت ریشه شده است (شکل ۱). تجمع کربوهیدرات‌های محلول در برگ بالغ گیاهان بیمار به فیتوپلاسما در دیگر مطالعات گزارش شده است (Lepka و همکاران، ۱۹۹۹).

یکی از ترکیبات کلیدی در افزایش تحمل گیاهان در برابر تنش‌ها، آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو می‌باشند. در مطالعه حاضر ۳۶۰ روز پس از آلودگی به فیتوپلاسما فعالیت آنزیم پراکسیداز در برگ نهال‌های آلوده افزایش یافت. علاوه بر این فعالیت سوپرکسید دیسموتاز در برگ گیاهان آلوده نسبت به گیاهان سالم کاهش نشان داد. سوپراکسید دیسموتاز دارای ایزومرهای مختلفی است که عنصر فلزی فعال‌کننده یا ساختمانی این ایزومرها متفاوت می‌باشد. در واقع سنتز و یا فعالسازی ایزومرهای مختلف این آنزیم به قابلیت دسترسی فلزات ذکر شده بستگی دارد. مطابق با نتایج Zafari و همکاران (۲۰۱۲) در لیمو آلوده به فیتوپلاسما مقدار افزایش بیان ایزومرهای Mn–SOD و Fe–SOD نسبت به ایزومر Cu–Zn–SOD بیشتر بود. هم‌چنین، در پژوهشی دیگر گزارش شده است که در شرایط کمبود منگنز مقدار فعالیت SOD در برگ لمون کاهش یافته است (Sevilla و همکاران، ۱۹۸۴). این محققین این کاهش فعالیت SOD در شرایط محدودیت منگنز را به سهم بیشتر ایزومر Mn–SOD در مقایسه با ایزومر Fe–SOD در برگ لیمو مرتبط دانسته‌اند. مطابق با آنالیز عناصر معدنی در مطالعه حاضر، غلظت منگنز در برگ لیموهای آلوده کمتر از لیموهای سالم بود. بنابراین، کاهش فعالیت آنزیم SOD در برگ لیمو آلوده می‌تواند ناشی از کمبود منگنز در برگ نهال‌های لیمو بیمار باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد بسیاری از تغییرات متابولیکی رخ داده در گیاه آلوده که منجر به تجمع و یا تخلیه برخی ترکیبات در بافت برگ آلوده می‌شود، را می‌توان به تغییر غلظت عناصر غذایی در برگ گیاه آلوده مربوط دانست. بنابراین، به‌نظر می‌رسد نقش تغذیه در پاسخ دفاعی گیاهان مکزیکن‌لایم به فیتوپلاسما بسیار پررنگ و حائز اهمیت است. به‌علاوه، این پژوهش نگرشی جدید در مورد پاسخ مکزیکن‌لایم به عامل بیماری فیتوپلاسما فراهم نموده و در اتخاذ راه‌کارهای تغذیه‌ای در جهت بازتوانی و افزایش عمر اقتصادی درختان آلوده به جاروک، می‌تواند مفید باشد. در واقع با بهبود سیستم ریشه درختان از طریق تغذیه مناسب و کاربرد عناصر غذایی موثر در رشد ریشه و نیز انجام تغذیه اصولی با در نظر گرفتن تعادل عناصر غذایی و در جهت رفع کمبودهای مشاهده شده (نیتروژن، کلسیم، بور و منگنز) می‌توان تولید و عمر اقتصادی درختان مبتلا به جاروک را بهبود بخشید.

منابع

Abdollahi, F., Niknam V. and Ghanati, F. 2013. Change of antioxidant levels in healthy Lime trees (*Citrus aurantifolia* L.) and infected one with phytoplasma by low frequency electromagnetic field. Adv. Crop Sci. 3, 308-315.

Beauchamp, C. and Fridovich, J. 1971. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Anal. Biochem. 44, 276–287.

Chance, B. and Maehly, S.K. 1955. Assay of catalase and peroxidase. Methods Enzymol. 2, 764–775.

Christensen, M.N., Axelsen, K.B., Nicolaisen, M. and Schulz, A. 2005. Phytoplasmas and their interactions with hosts. Trends Plant Sci.10, 526-535.

Giorno, F., Guerriero, G., Biagetti, M., Ciccotti, A.M. and Baric, S. 2013. Gene expression and biochemical changes of carbohydrate metabolism in vitro micro-propagated apple plantlets infected by '*Candidatus* Phytoplasma mali'. Plant Physiol. Biochem.70, 311-317.

Himeno, M., Kitazawa, Y., Yoshida, T., Maejima, K., Yamaji, Y., Oshima, K. and Namba, S. 2014. Purple top symptoms are associated with reduction of leaf cell death in phytoplasma-infected plants. Sci. Rep.4, 1-7.

Kalra, Y.P. 1998. Handbook of reference methods for plant analysis. CRC Press, London.

Lepka, P., Stitt, M., Moll, E. and Seemüller, E. 1999. Effect of phytoplasmal infection on concentration and translocation of carbohydrates and amino acids in periwinkle and tobacco. Physiol. Mol. Plant Pathol. 55, 59-68.

Poschenrieder, Ch., Tolra, R. and Barcelo, J. 2006. Can metals defend plants against biotic stress? Trends Plant Sci. 11, 288-295.

Salehi, M., Izadpanah, K. and Rahimian, H. 1997. Witches' broom disease of lime in Sistan, Baluchistan. Iran. J. Plant Pathol.33, 76.

Sevilla, F., Del Rro, L.A. and Hellln, E. 1984. Superoxide dismutase from a citrus plant: Presence of two iron-containing isoenzymes in leaves of lemon trees (*Citrus limonum* L.). J. Plant Physiol.116, 381-387.

Zafari, S., Niknam, V., Musetti, R. and Noorbakhsh, S.N. 2012. Effect of phytoplasma infection on metabolite content and antioxidant enzyme activity in lime (*Citrus aurantifolia*). Acta Physiol. Plant. 34, 561–568.

Topic for submission: Soil Fertility, Plant Nutrition and Greenhouse Cultivation

Effect of phytoplasma infection on nutrient concentration and biochemical characteristics in the leaves of Mexican lime

Raiesi[*1], T.

[1] Citrus and Subtropical Fruit Research Center, Horticultural Science Research Institute, Agricultural Research and Education Organization (AREO), Ramsar, Iran;

Abstract

Witches' broom disease of lime (WBDL), caused by '*Candidatus* Phytoplasma aurantifolia', is major limiting factor for Mexican lime (*Citrus aurantifolia* Swingle) production in southern Iran. In this investigation, nutritional status and biochemical composition of the healthy and infected Mexican lime was evaluated under greenhouse condition. For this aim, stem cuttings were taken from healthy Mexican lime. After three months, half of Mexican lime cutting were inoculated by bark-grafting from WBDL-affected Mexican. One year after inoculation with phytoplasma, some expanded leaves from healthy and infected plants were sampled for measurement of the activity of peroxidase and superoxide dismutase enzymes, soluble carbohydrate and starch. The nutrient including nitrogen, phosphorus, potassium, calcium, magnesium, boron, iron, manganese, zinc and copper were also measured in leaves of the plants. The results showed that phytoplasma infection led to a marked increase in soluble carbohydrates and starch in the infected leaves. The activity of superoxide enhanced and the activity of dismutase enzyme decreased in the infected leaves in comparison with healthy leaves. Moreover, infection caused to a marked decrease in the concentration of nitrogen, calcium, boron, manganese, and significant increase in phosphorus, magnesium, potassium, iron, zinc, and copper in the infected leaves. In conclusion, this study provides new insights into the lime response to phytoplasma infection and sheds light on the metabolically and nutritional mechanisms associated with WBD disease development.

Keywords: Antioxidant, Boron, calcium, Carbohydrate, Manganese, Nitrogen.

[*] Corresponding author, Email: t.raiesi@areeo.ac.ir