العلاقة المصلية بين فايتوبلازما مكنسة الساحرة على الطرطيع (*Suaeda baccata* Forssk.) وتلك التي تصيب بعض المحاصيل الاقتصادية ونباتات الأدغال/الأعشاب في العراق

رقيب عاكف العاني[1]، فضل عبد الحسين[1]، فرقد عبد الرحيم الراوي[1] وعبد الجبار ناصر الشمري[2]

(1) قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة بغداد، أبو غريب، بغداد، العراق؛ (2) قسم الأحياء المجهرية، كلية الطب البيطري، جامعة بغداد، أبو غريب، بغداد، العراق.

الملخص

العاني، رقيب عاكف، فضل عبد الحسين، فرقد عبد الرحيم الراوي وعبد الجبار ناصر الشمري. 2001. العلاقة المصلية بين فايتوبلازما مكنسة الساحرة على الطرطيع (*Suaeda baccata* Forssk.) وتلك التي تصيب بعض المحاصيل الاقتصادية ونباتات الأدغال/الأعشاب في العراق. مجلة وقاية النبات العربية. 19: 59-64.

أجريت هذه الدراسة بهدف تحديد العلاقة المصلية بين الفايتوبلازما التي تسبب أعراض مكنسة الساحرة على الطرطيع (*Suaeda baccata* Forssk.) وتلك التي تم تشخيصها على عدد من المحاصيل الاقتصادية ونباتات الأدغال/الأعشاب في العراق. أمكن تنقية الفايتوبلازما المسببة لمرض مكنسة الساحرة على الطرطيع جزئياً بعملية طرد مركزي عبر تدرج كثافي من البيركول (percoll) (15-50%) بسرعة 20000g (وحدة جاذبية أرضية) لمدة 20 دقيقة. تم الحصول على مصل مضاد لهذه الفايتوبلازما عن طريق حقن المادة النقية منها في مناطق مختلفة من جسم أرنب نيوزلاندي (تحت الجلد وفي عضلة الفخذ). أظهرت نتائج اختبار الانتشار المناعي المزدوج تفاعل بين المصل المضاد لفايتوبلازما مكنسة الساحرة على الطرطيع والمادة النقية جزئياً التي حقن بها الأرنب أو مع مستخلص من نبات مصاب في محلول منظم ملحي (PBS) في وسط الأجاروز الحاوي على Sodium dodecyl sulfate (SDS). وأشارت هذه النتائج إلى إمكانية استخدام هذه التقنية للكشف عن الفايتوبلازما. ظهر تفاعل بين المصل المضاد الذي تم إنتاجه ومستخلصات من نباتات الطماطم/البندورة المصابة بمرض مكنسة الساحرة أو تضخم البراعم، التوت المصاب بالتفلطح، الخس البري المصاب بتورق الأزهار والكسوب الأصفر المصاب بالاصفرار، مما يشير إلى أن هذه الفايتوبلازما تكون مجموعة مصلية واحدة. لم يظهر تفاعل بين المصل المضاد ومستخلصات من نباتات البطاطا/البطاطس والسمسم المصابة بالفايتوبلازما مما يشير إلى أنها قد تمثل مجموعة مصلية أخرى.

كلمات مفتاحية: طرطيع، فايتوبلازما، مكنسة الساحرة.

المقدمة

بدأت الأمراض التي تسببها الفايتوبلازما تحتل جانباً مهماً في علم أمراض النبات في العقدين الأخيرين من القرن المنصرم، إذ سجلت العديد من الأمراض التي تسببها الفايتوبلازما على عدد كبير من المحاصيل الاقتصادية ونباتات الأدغال/الأعشاب ونباتات الزينة في العالم وفي العراق، وتركزت بحوث الكثير من الباحثين للكشف عنها وتحديد أهميتها ودراسة وضعها التصنيفي (1، 2، 8، 14، 16، 23، 24).

جرت محاولات عديدة لتقسيم الفايتوبلازما اعتماداً على الأعراض التي تسببها على النباتات التي تصيبها، وقسمت على هذا الأساس إلى مجموعتين، الأولى تسبب أعراض التدهور والأخرى تسبب أعراض تورق الأزهار (Phyllody). واعتمد نظام حديث لتصنيف الفايتوبلازما يأخذ بالاعتبار الصفات الظاهرية والجينية، إذ استخدم البروتين الرايبوسومي والأحماض النووية الرايبوسومية للفايتوبلازما (5s، 16s، 23s) بعد كلونتها في كائنات أخرى (17، 23). وقسمت الفايتوبلازما اعتماداً على هذه المعايير إلى ثلاثة مجاميع تنقل بثلاثة نواقل مختلفة (19) ثم قسمت من قبل الباحثين أنفسهم إلى خمسة مجاميع تضم 20 نوعاً من الفايتوبلازما ضمن مجموعة الاكوليبلازما (Acholeplasma). واستنتج Gunderson وآخرون (10) أن مجموعة اصفرار الأستر وفرط النمو الزهري في التفاح قريبة من مجموعة الاكوليبلازما. ودُرس الوضع التقسيمي لـ 17 نوعاً من الفايتوبلازما ووجدت قريبة من الـ Acholeplasma (21). وتم تقسيم تسعة عزلات من الفايتوبلازما إلى أربعة مجاميع (25).

ونظراً لارتفاع عدد الأمراض التي تسببها الفايتوبلازما بشكل ملفت للنظر في العراق فقد أجريت هذه الدراسة لتحديد العلاقة بينها واتخذت الفايتوبلازما التي تصيب الطرطيع (*Suaeda* baccata) أساساً للمقارنة واعتمدت العلاقة السيرولوجية معياراً لتقسيمها.

مواد البحث وطرائقه

استخلاص وتنقية الفايتوبلازما

طحن 200 غ من أوراق نبات الطرطيع المصاب بالفايتوبلازما مع 200 مل من وسط العزل (0.3 جزيء D-mannitol، 0.004 جزيء Cysteine، 0.03 جزيء N-morpholine-propane sulfonic acid (MOPS)، 0.001 جزيء EDTA (Ethylene diamine tetraacetic acid)، 0.6% (PVP) Polyvinyl pyrrolidone بدرجة حموضة 7.2 (11) في خلاط كهربائي مبرد. أفرغت محتويات الخلاط في هاون خزفي مبرد وسحقت بواسطة المدقة حتى اختفاء الألياف.

رشح المستخلص عبر ثلاث طبقات من الشاش المعقم وأكمل الحجم إلى 800 مل بإضافة وسط العزل. أجريت على المستخلص عملية طرد مركزي بسرعة 1500g (وحدة جانبية أرضية) لمدة 8 دقائق على درجة حرارة 4°س باستخدام الرأس الدوار في المثفلة (Beckman, JA-21). جمع الرائق واخضع لعملية طرد مركزي بسرعة قدرها 35000g لمدة 30 دقيقة. علق الراسب في 100 مل من وسط التعليق (0.3 جزيء D-mannitol، 0.02 جزيء MOPS، درجة حموضته 7.0) وأجريت عليه عملية طرد مركزي بسرعة 1500g ثم أجري على الرائق عملية طرد مركزي بسرعة 35000g وعلق الراسب في 10 مل من وسط التعليق السابق نفسه المبرد. كررت العمليات أعلاه على مستخلص نبات سليم للمقارنة. وتضمنت المرحلة الأخيرة من التنقية عملية طرد مركزي لمعلق الفايتوبلازما بسرعة 20000g عبر تدرج كثافي من البيركول 15، 30 و 50%. استخدم البيركول 90% وخفف إلى التراكيز المطلوبة بواسطة محلول يحتوي على (0.25 جزيء سكروز 0.01 جزيء MOPS بدرجة حموضة 7.0). صب 6 مل من التركيز 50% و 11 مل من التركيز 30% و 11 مل من التركيز 15% في أنبوبة التدرج (9.5×2.5 سم). وضع 1 مل من معلق الفايتوبلازما على سطح التدرج وأجريت عملية الطرد مركزي بسرعة 20000g لمدة 20 دقيقة في الرأس الدوار Beckman JA-20. جمعت منطقة تجمع الفايتوبلازما وخففت في وسط التعليق وأجريت عليها عملية طرد مركزي بسرعة 100000g مدة ساعتين في المثفلة فائقة السرعة لإزالة البيركول. علق الراسب في محلول منظم فوسفاتي ملحي (PBS) (0.01 جزيء، درجة حموضته 7.0 يحوي 0.85% كلوريد الصوديوم) وحفظ عند درجة –20°س. حضر مستخلص نبات سليم بالطريقة نفسها وأخضع للعمليات السابقة نفسها للمقارنة (11، 12، 18، 22).

تحضير المصل المضاد للفايتوبلازما

مزج 3.5 مل من معلق الفايتوبلازما المنقاة الحاوي على 400 مايكروغرام/مل مع حجم مساوٍ من مساعد فرويند الكامل بشكل جيد حتى أصبح المزيج متجانساً واستخدم في حقن الأرنب. تم حقن 0.4 مل في الفخذ و 2 مل في أربعة مواقع لعضلات الكتف الأيمن والأيسر و 0.8 مل في أربعة مواقع تحت الجلد في منطقة الظهر. وبعد مرور ثلاثة أسابيع على الحقن، أعطيت الأرنب أربعة حقنات داعمة (0.5 مل لكل حقنة) في عضلة الفخذ. أخذت عينة من المصل بعد ثلاثة أسابيع من الحقنة الأولى واختبر احتواؤها على الأجسام المضادة بواسطة اختبار الترسيب الدقيق على شريحة زجاجية واستخدم مصل غير ممنع للمقارنة. سحب الدم الكلي للأرنب بعد أسبوعين من آخر حقنة من القلب مباشرة بواسطة محقن حجم 20 مل وأبرة قياس 19 وجمع في قناني معقمة وترك 1–2 ساعة عند درجة حرارة المختبر للتخثر ثم وضع في الثلاجة عند درجة حرارة 4°س حتى اليوم التالي. سحب المصل وأجريت عليه عملية طرد مركزي بسرعة قدرها 2000 دورة/دقيقة مدة 10 دقائق، حفظ الرائق في قناني صغيرة معقمة عند درجة حرارة – 20°س.

اختبار الانتشار المزدوج

لتفادي حصول تفاعل غير متخصص بين المصل المضاد والبروتينات النباتية فقد جرى إجهاد المصل المضاد بمعاملته مع بروتينات نباتية استخلصت من نبات طرطيع غير مصاب بواسطة الاسيتون. خلط البروتين (تم الحصول على البروتين بسحق 10 غ من أوراق نبات الطرطيع مع 200 مل أسيتون في هاون خزفي ورشح المستخلص خلال ورق ترشيح Whatman no.4 على قمع بخنر مع التفريغ. غسل البروتين بمقدار 750 مل محلول فوسفاتي ملحي 0.2 جزيء يحوي 0.2 جزيء كلوريد الصوديوم) مع 10 مل مصل مضاد وحضن عند درجة 37°س مدة ساعتين واجريت له عملية طرد مركزي بسرعة 17000g مدة 15 دقيقة، واخذ الرائق (6).

اجري الاختبار في أطباق بتري قطر 9 سم، حيث صب في كل طبق 20 مل من هلام الأجاروز 1% في محلول منظم فوسفاتي 0.01 جزيء درجة حموضته 7.0 يحوي 0.85% كلوريد الصوديوم و 0.2% أزيد الصوديوم. ترك الهلام ليتصلب ثم عملت حفرة مركزية قطر 6 مم تحيطها 6 حفر قطر كل منها 6 مم والمسافة بين الحفرة المركزية والحفر المحيطية 5 مم. وضع في الحفرة المركزية 50 ميكروليتر من المصل المناعي المضاد غير المخفف ووضع في كل حفرة من الحفر المحيطية 50 ميكروليتر من كل مستخلص من مستخلصات الفايتوبلازما. حضر مستخلص الفايتوبلازما بهرس 200 غ من أوراق نبات الطرطيع المصاب في خلاط مبرد يحوي 200 مل من وسط العزل (0.3 جزيء مانيتول، 0.004 جزيء l-cystein، 0.03 جزيء MOPS، 0.001 جزيء Ethylene diamine tetra acetic acid (EDTA)، 0.6% PVP، درجة حموضة 7.2) مدة 2–3 مرات على مدى دقيقتين. رشح المستخلص عبر ثلاث طبقات من الشاش المعقم وأكمل الحجم إلى 800 مل بوسط العزل نفسه. أجريت على المستخلص عملية طرد مركزي بسرعة 1500g مدة 8 دقائق بدرجة 4°س في الرأس الدوار نوع JA-14 في جهاز الطرد المركزي (Beckman J-21). جمع الرائق وأجريت له عملية طرد مركزي بسرعة 35000g لمدة 30 دقيقة بدرجة 4°س. علق الراسب في 100 مل من وسط التعليق (0.3 جزيء D-mannitol، 0.02 جزيء MOPS، درجة حموضة 7) وأجريت له عملية طرد مركزي بسرعة 1000g ثم عملية طرد مركزي بسرعة 3500g عند درجة حرارة 4°س علق الراسب في 10 مل من وسط التعليق المبرد واستخدم في اختبار الانتشار المزدوج. وضعت الأطباق في جو رطب عند درجة حرارة 25°س مدة 24 ساعة (20) كرر الاختبار على شريحة زجاجية (18×5 سم) وسمك 1.5 مم. صب مقدار 10 مل من الهلام على الشريحة وترك ليتصلب وعملت فيه حفر واجري الاختبار بالطريقة نفسها. غطس الهلام بعد اكتمال التفاعل في

محلول كلوريد الكالسيوم 0.85% مدة 24 ساعة، ثم جفف بواسطة 5-6 أوراق ترشيح مع كبس خفيف لامتصاص الرطوبة، وأكملت عملية التجفيف في فرن عند درجة حرارة 55-60°س. صبغ الهلام بصبغة الكوماسي الزرقاء مدة 10 دقائق (1.25 غ صبغة الكوماسي في 250 مل محلول إزالة الصبغة المتكون من 225 مل كحول ايثانول، 225 مل ماء مقطر، 50 مل حامض الخليك)، أزيلت الصبغة بتغطيس الهلام في محلول إزالة الصبغة مدة 15 دقيقة حتى ظهور خط الترسيب.

النتائج والمناقشة

تنقية الفايتوبلازما

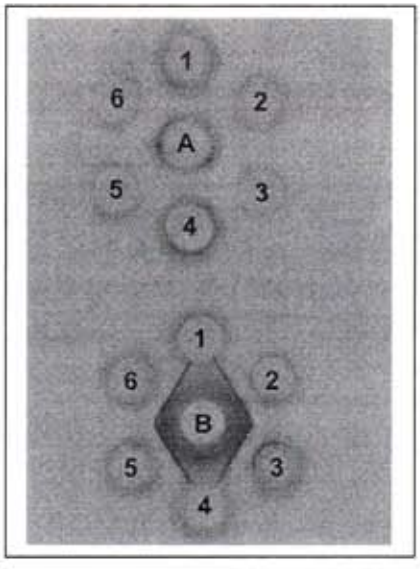
أمكن الحصول على تحضيرة من الفايتوبلازما المسببة لمرض مكنسة الساحرة على الطرطيع منقاة على تدرج كثافي من البيركول (Percoll)، لوحظ تجمعها في المنطقة المحصورة بين 30 و 50% من البيركول. ولم يكن بالإمكان الحصول على الفايتوبلازما خالية تماما من المكونات الخلوية الأخرى لتماثل كثافة العضيات النباتية كالمايتوكوندريا والأغشية الخلوية الممزقة والكلوروفيل مع كثافة الفايتوبلازما فضلاً عن عدم تجانس الفايتوبلازما نفسها (11) مما أدى إلى توزعها على امتداد التدرج واعتمدت طريقة التنقية الجزئية لاحتواء تحضيرات الفايتوبلازما على أكثر من 90% من خلايا الفايتوبلازما (22). استخدم البيركول Colloidal silica مغلف بمادة Polyvinyl pyrrolidon في التدرج الكثافي الذي يعمل على تكوين ظروف شبه ازموزية ويقلل من تصادم الخلايا مع بعضها فضلاً عن أن الأغشية الخلوية غير منفذة له مما يمنع حصول تغيير في كثافة الخلايا أثناء عملية الطرد المركزي. كما أنه يعمل على سرعة فصل خلايا الفايتوبلازما وعدم إعطائها الفرصة للتحلل (11).

تحضير المصل المضاد

أوضح اختبار الترسيب الدقيق على شريحة زجاجية احتواء مصل الأرنب المحقون بتحضيرة الفايتوبلازما المسببة لمكنسة الساحرة على الطرطيع على أجسام مضادة متخصصة لها بعد 21 يوماً من عملية الحقن، إذ ظهر تكتل عند مزج قطرة من المصل المضادة مع قطرة من تحضيرة الفايتوبلازما ومع مستخلص نبات مصاب بها ولم يتكون مثل هذا الراسب بين المصل غير الممنع وتحضيرة الفايتوبلازما أو مستخلص نبات مصاب بها.

اختبار الانتشار المزدوج

أوضحت نتائج اختبار الانتشار المناعي المزدوج بين المصل المضاد غير المخفف للفايتوبلازما المسببة لمرض مكنسة الساحرة على الطرطيع ومستحضر الفايتوبلازما المنقى جزئياً بطريقة التدرج الكثافي أو بروتيناتها المستخلصة بواسطة الاسيتون ومستخلص نبات طرطيع مصاب بالفايتوبلازما في محلول منظم فوسفاتي ملحي حدوث تفاعل بينهما ظهر بشكل خطوط ترسيب (شكل 1). وتشير هذه النتائج إلى إمكانية تشخيص الفايتوبلازما بالطرق المصلية فضلاً عن الطرق المتبعة في تشخيصها في حالة إمكانية استخلاصها وتنقيتها من النبات المصاب. واظهر المصل المضاد لفايتوبلازما الطرطيع تفاعلاً موجباً مع خلايا الفايتوبلازما أو بروتيناتها المستخلصة من نباتات أخرى مصابة كالفايتوبلازما المسببة لمرض تورق الأزهار وتضخم البراعم على الطماطم/البندورة وتفلطح سيقان التوت وتورق أزهار الخس البري ومكنسة الساحرة على الكسوب الأصفر (شكل 2)، ولم يظهر مثل هذا التفاعل مع نباتات المقارنة أو مع مستخلص نبات مصاب لأنواع نباتية أخرى (جدول 1). وقد استخدم هذا الاختبار من قبل العديد من الباحثين لدراسة العلاقة بين أنواع مختلفة من الفايتوبلازما، فاستخدم للتفريق بين الفايتوبلازما المسببة لأمراض الاصفرار (9)، وفي تقسيم السبايروبلازما المستخلصة من النباتات المصابة والحشرات (7)، واستخدم في تشخيص السبايروبلازما المسببة لمرض العناد في الحمضيات (14) وفي تشخيص فايتوبلازما تقزم الرز واصفراره (5) وفي الكشف عن الفايتوبلازما التي تصيب أشجار الكرز ونباتات عين البزون (4، 11) وفي الكشف عن عزلات الفايتوبلازما المسببة لأعراض stolbur على الطماطم/البندورة وتقسيمها (3).



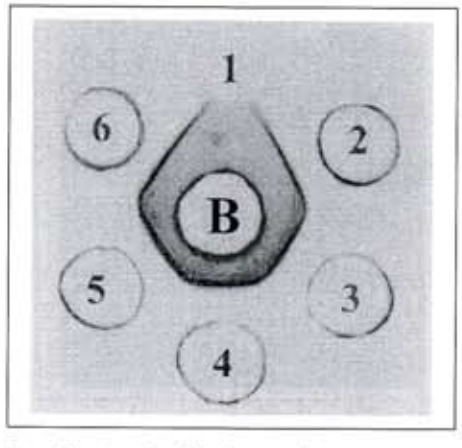
شكل 1. العلاقة المصلية بين المصل المضاد لفايتوبلازما مكنسة الساحرة على الطرطيع ومستضداته. (A) مصل غير ممنع، (B) مصل ممنع. 1= محلول منظم PBS، 2= بروتينات الفايتوبلازما، 3= بروتينات الفايتوبلازما المستخلصة بواسطة الاسيتون، 4= بروتينات نبات سليم، 5= فايتوبلازما منقاة جزئيا، 6= مستخلص نبات طرطيع مصاب.

Figure 1. Serological relationship between suaeda Witches' broom phytoplasma antiserum and its antigens. (A) antiserum, (B) normal serum. 1= PBS buffer, 2= Phytoplasma proteins, 3= Phytoplasma proteins extracted by acetone 4= Proteins of healthy plant, 5= partially purified phytoplasma, 6= Extract of infected suaeda plant

جـدول 1. طبيعة الاستجابة المناعية بين المصل المضاد لفايتوبلازما مكنسة الساحرة على الطرطيع وبروتينات الفايتوبلازما المستخلصة من انواع نباتية أخرى (المستضدات)، باستعمال اختبار الانتشار المناعي المزدوج.

Table 1. Doule immuno diffusion reactions between the antiserum of suaeda Witches' broom and the protein of phytoplasmas extracted from different plant species.

الاستجابة المناعية لمصل فايتوبلازما الطرطيع Immunological response	Symptoms	طبيعة الأعراض المرضية الظاهرية	Antigens (Scientific name)	مصدر المستضدات النباتية (الاسم العربي)
−	Fasciation	تفلطح السيقان	*Amaranthus caudatus* L.	عرف الديك
−	Fasciation	تفلطح الساق	*Buxus sempervirens* L.	الشمشار
−	Phyllody	تورق الأزهار	*Callistemon viminale* (Sol. Ex. Goerth.)	فرشة البطل
+	Witches' broom	مكنسة الساحرة	*Carthamus oxycantho* M.B.	الكسوب الأصفر
−	Phyllody, Stubborn	تورق الأزهار، التحزن	*Catharanthus roseus* L.G.Don.	عين البزون
−	Stubborn & Yellowing	تحزن واصفرار النبات	*Citrus deliciosa* Ten.	لالنكي
−	Stubborn & Yellowing	تحزن واصفرار النبات	*Citrus sinensis* (L.) Osbeck	البرتقال
−	Fasciation	تفلطح الساق	*Cucumis sativus* L.	الخيار
−	Witches' broom	مكنسة الساحرة	*Dodonaea viscosa* (L.) Jacq.	دودونيا
−	Phyllody	تورق الأزهار	*Eucalyptus* sp.	اليوكالبتوس
−	Phyllody	تورق الأزهار	*Gardenia jasminoides* Ellis.	الكاردينيا
−	Phyllody & Fasciation	تورق الأزهار وتفلطح السيقان	*Jasminum sambae* (L.) Ait	الرازقي
+	Phyllody	تورق الأزهار	*Lactuca serriola* L.Mesa	الخس البري
+	Phyllody & Big bud	تورق الأزهار وتضخم البراعم	*Lycopersicon esculentum* Mill.	الطماطم/البندورة
−	Fasciation	تفلطح السيقان	*Melia azedarach* L.	سبحبح/الأزداراخت
+	Fasciation	تفلطح الأغصان	*Morus alba* L.	التوت الأبيض
−	Little leaves	صغر حجم الأوراق	*Olea eurapaea* L.	الزيتون
−	Proliferation & Fasciation	فرط النمو الزهري وتفلطح	*Pyrus malus L.*	التفاح
−	Little leaves	صغر حجم الأوراق	*Rosa* sp.	الورد الجوري
−	Phyllody & Fasciation	تورق الأزهار، تفلطح السيقان	*Sesamum indicum* L.	السمسم
−	Phyllody	تورق الأزهار	*Solanum melongena* L.	الباذنجان
−	Aerial tubers & Purple top roll	الدرنات الهوائية والتفاف	*Solanum ruberosum* L.	البطاطا/البطاطس
+	Witches' broom	مكنسة الساحرة	*Suaeda baccata* Forssk.	الطرطيع
−	Phyllody	تورق الأزهار	*Tagetes patula* L.	القديفة
−	Fasciation	تفلطح السيقان	*Vigna unguiculata* (L.) Walp.	اللوبياء



شكل 2. العلاقة المصلية بين المصل المضاد لفايتوبلازما مكنسة الساحرة على الطرطيع (B) وبروتيناتها المستخلصة من نباتات اخرى (المستضدات). 1= مستخلص نبات طرطيع سليم، 2= مستخلص نبات طماطة مصاب، 3= مستخلص نبات التوت الأبيض مصاب، 4= مستخلص نبات طرطيع مصاب، 5= مستخلص نبات الخس البري مصاب، 6= مستخلص نبات الكسوب الأصفر مصاب

Figure 2. Serological relationship between suaeda Witches' broom phytoplasma antiserum (B) and its proteins extracted from other plants. 1= Extract of suaeda healthy plant, 2= Extract of infected tomato plant, 3= Extract of infected mulberry plant, 4= Extract of infected suaeda plant, 5= Extract of infected wild lettuce plant, 6= Extract of infected yellow thistle plant.

وقد أظهرت نتائج هذا الاختبار وجود علاقة مصلية بين فايتوبلازما الطرطيع وتلك التي تصيب نباتات الطماطم/البندورة والتوت الأبيض والخس البري والكسوب الأصفر (شكل 2). ولم تظهر علاقة بين فايتوبلازما الطرطيع وتلك التي تصيب السمسم والبطاطا كما كان متوقعاً نظراً لنسبة الإصابة العالية في كل من الطرطيع والسمسم. يستخلص من هذه النتائج أن الفايتوبلازما التي شخصت على نباتات الأدغال/الأعشاب (الطرطيع، الخس البري، الكسوب الأصفر) تكون مجموعة مصلية واحدة وقد تكون مصدراً لإصابة نباتات الطماطم/البندورة والتوت الأبيض كونها تنتمي للمجموعة المصلية نفسها. ولإثبات صحة هذا الاستنتاج أجريت محاولة لنقل الفايتوبلازما بين هذه العوائل بواسطة الحقن، إلا أن المحاولة لم تكلل بالنجاح لفقدان الفايتوبلازما لحيويتها، ولم يستبعد وجود مواد سامة مثبطة لنموها في النبات المصاب (15). وقد يعود السبب أيضاً إلى تأثير اختلاف العوامل الفيزيائية والكيميائية لمستخلص الفايتوبلازما كالضغط الازموزي والرقم الهيدروجيني عما هو عليه داخل أنسجة النبات المصاب. وربما يصبح التحري عن هذه الأسباب ممكناً في حالة تشخيص الناقل للفايتوبلازما واستخدامه في عملية نقلها بين العوائل المختلفة. وأصبح الآن بالإمكان التفريق بين عزلات الفايتوبلازما

المختلفة في مختبرات عديدة في العالم باستخدام تقنية PCR عن طريق مضاعفة الحامض النووي (DNA) لفايتوبلازما من النبات مباشرة ثم ترحيله على الهلام دون الحاجة لتنمية الفايتوبلارزما إلا أن إمكانية تطبيقها في العراق ما زال قيد الدراسة في الوقت الحاضر لعدم توافر مستلزماته.

يستخلص من نتائج هذه الدراسة، إمكانية تقسيم الفايتوبلازما التي تم تشخيصها إلى مجموعتين اعتماداً على علاقتها المصلية مع الفايتوبلازما المسببة لمكنسة الساحرة على نباتات الطرطيع، إلا أن هذا لا يعني وجود مجموعتين مصليتين فقط إذ ربما تضم المجموعة التي لم تعط تفاعلا موجبا مع المصل المضاد لفايتوبلازما الطرطيع أكثر من مجموعة مصلية واحدة. ولإثبات هذه النقطة ينبغي استخلاص وتنقية أحد أفراد هذه المجموعة ودراسة علاقته المصلية مع بقية أفراد المجموعة لتحديد كونها تمثل مجموعة واحدة أو أكثر.

Abstract

Al-Ani, R.A., K.F. Al-Fadhil, F.A. Al-Rawi and A.N. Al-Shamri. 2001. Serological Relationship Between Suaeda Witches' Broom Phytoplasma and those Infecting Some Crops and Weed Plants in Iraq. Arab J. Pl. Prot. 19: 59-64.

This study was carried out to determine the serological relationship between suaeda *(Suaeda baccatum)* Witches' broom phytoplasma (SWB) and those infecting several other crops and weeds in Iraq. Partial purification of suaeda phytoplasma was achieved by centrifugation through percoll gradient (15-50%) at 20000g for 20 min. Antiserum for this phytoplasma was obtained within 6 weeks following 12 intramuscular and subcutaneous injections in a rabbit. The rabbit was bled two weeks after the last injection. Results of double immuno diffusion test showed a positive reaction between SWB-AS and its antigen or extracts from infected plants, in PBS buffer, in an agarose medium containing sodium dodecyl sulfate (SDS). These results indicated the possibility of utilizing this technique for phytoplasma detection. A cross-reaction was noticed between SWB-AS and extracts from tomato plants showing Witches' broom and big bud symptoms, mulbery fasciation, wild lettuce phyllody and yellow thistle which indicated that these phytoplasmas are serologically related. No reaction was observed between SWB-AS and extracts from phytoplasma-infected potato and sesame, indicating that such phytoplasmas represent a different serogroup.

Key words: suaeda, phytoplasma, Witches' broom.

***Corresponding author**: R.A. Al-Ani, Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, University of Baghdad, Abu Ghraib, Baghdad, Iraq.*

المراجع

1. **الراوي، فرقد عبد الرحيم، رقيب عاكف العاني وميسر مجيد جرجيس.** 1990. اشباه المايكوبلازما المرافقة لمرض تورق ازهار الخس البري *Lactuca serriola* في العراق. مجلة وقاية النبات العربية (8):45-48.
2. **الفضل، فضل عبد الحسين خليل.** 1997. الكشف عن الفايتوبلازما في بعض الأدغال وعلاقتها مع فايتوبلازما بعض المحاصيل الاقتصادية. اطروحة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة بغداد. 132 صفحة.

References

3. **Boudon-Padieu, E., M.T. Cousin, X. Daire, C. Hiruki, C. Kuszala and J. Roux.** 1996. Molecular and serological characterization of phytoplasma isolates inducing tomato stolbur symptoms on tomato. IOM Lett, 4:167-168.
4. **Carraro, L., N. Loi, A. Gregoris, P. Ermacora and R. Osler.** 1996. Studies on the transmission of a phytoplasma from *Chrysanthemum leucanthemum* L. by the leafhopper *Euscelidius variegatus* Kbm. IOM Lett, 4:127-128.
5. **Chang, F.L., C.C. Chen and C.P. Lin.** 1995. Monoclonal antibody for the detection and identification of a phytoplasma associated with rice yellow dwarf. Europ. J. Pl. Path. 101:511-518.
6. **daRocha, A., S.T. Ohki and C. Hiruki**. 1986. Detection of mycoplasma-like organisms in situ by indirect immunofluorescence microscopy. Phytopathology, 76:864-868.
7. **Davis, R.E. and I.M. Lee**. 1982. Comparative properties of spiroplasma and emerging taxonomic concepts: A proposal review of infectious diseases, 4(5):122-128.
8. **El-Behadeli, A.H., A.M. Al-Shahwani, Y.P. Rathi and L. Maki.** 1988. Mycoplasma-like organisms associated with safflower phyllody in Iraq. Indian J. Pl. Pathol., 6(1):77-78.
9. **Giannotti, J., J. Sassine and D. Ozrnecky.** 1973. Serological and biological characterization of three plant mycoplasma corresponding to three different diseases. Rev. Pl. Path., 53(875).
10. **Gunderson, D.E., I.M. Lee, S. Rehner, R. Davis and D.T. Kingsbury.** 1994. Phylogeny of mycoplasma like organisms: A basis for establishing their taxonomy. IOM Lett., 3:222-223.
11. **Guo, Y.H., J.A. Walla, Z.M. Cheng, and I.M. Lee.** 1996. X-disease confirmation and distribution in chokecherry in North Dakota. Plant Disease, 80:95-102.
12. **Jiang, Y.P. and T.A. Chen.** 1987. Purification of mycoplasma like organisms from lettuce with aster yellow disease. Phytopathology, 77:949-953.
13. **Jiang, Y.P., J.D. Lei and J.A. Chen.** 1988. Purification of Aster yellow agent from diseased lettuce using affinity chromatography. Phytopathology, 78:828-831.
14. **Jordan, R.L., M. Kona, I.M. Lee and R.E. Davis**. 1989. Specific-specific and cross reactive monoclonal antibodies to the plant pathogenic spiroplasma, *S. citri* and *S. kunkelii*. Phytopathology, 79:880-887.
15. **Kirkpatreik, B.C. and B.B. Sears.** 1995. International committee on systematic bacteriology sub-committee on the taxonomy of mollicutes minutes of the interim meeting. 17-26 July-1994 Int. J. Syst. Bacteriol., 45:415-417.
16. **Liao, C.H. and T.A. Chen**. 1977. Culture of corn stunt spiroplasma in a simple medium. Phytopathology, 67:802-807.
17. **Lim, P.O. and B.B. Sears.** 1992. Evolutionary relationship of plant pathogenic mycoplasma like organisms and *Acholeplasma laidlawii* deduced from two ribosomal protein gene sequences. J. Bacteriol., 174:2606-2611.

18. **Loi, N., P. Ermacore, L. Carraro and I. Perlot.** 1994. Production of monoclonal antibodies against a mycoplasma like organisms associated with tagetes Witche's broom (TWB). IOM Lett., 3:284.
19. **Namba, S., H. Oyaizu, S. Kato, S. Iwanami and T. Tsuchizaki.** 1993. Phytogenetic deversity of phytopathogenic mycoplasma like organisms. Int. J. Syst. Bacteriol. 43:461-467.
20. **Purcifull, D.E. and D.L. Batchelar.** 1977. Immunodiffusion tests with sodium dodecyl sulfate (SDS) treated plant viruses and plant viral inclusions. Bulletin 788, University of Florida, Gainesville. 39 pp.
21. **Seemuller, E., P. Schneider, R. Maurer, V. Ahrens, X. Daire, H. Kison, K.H. Lorenz, A. Hoffman, G. Firrao, L. Avinent and E. Stackebrandt.** 1994. Phytogenetic classification of plant pathogenic mycoplasmas by sequence analysis of 16s rDNA. IOM Lett., 3:224-225.
22. **Sinha, R.C.** 1979. Purification and serology of mycoplasma-like organisms from aster yellows infected plants. Can. J. Pl. Path., 1:65-70.
23. **Toth, K.F., N. Harrison and B.B. Sears.** 1994. Phylogenetic relationships among members of the class mollicutes deduced from rps3 gene sequences. Int. J. Syst. Bacteriol., 44:119-124.
24. **Verma, O.P. and L.N. Daftari.** 1985. Effect of phyllody on plant yield, germination test weight and oil content of sesame seeds. Rev. Pl. Path., 64(5056).
25. **Zhong, Q. and C. Hirahi.** 1994. Genetic differentiation of phytoplasma isolates determined by a DNA heteroduplex mobility assay. Proc. Japan Acad., 70(8):127-131.