دانش بیماری‌شناسی گیاهی (شاپای ا: ۶۲۹۰-۲۵۸۸، شاپای چ: ۹۲۷۰-۲۲۵۱)
سال یازدهم، جلد ۱، پاییز و زمستان ۱۴۰۰
Plant Pathology Science (eISSN:2588-6290, pISSN:2251-9270)
Vol. 11(1), 2022

Extensional Article

Acute oak decline disease

Meysam Bakhshi Ganje✉
Department of Plant Protection Researches, Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Yasouj, Iran

Received: 04.29.2021 Accepted: 10.09.2021

Bakhshi Ganje M (2022) Acute oak decline disease. Plant Pathology Science 11(1):122-132. Doi: 10.2982/PPS.11.1.122.

Abstract
Acute oak decline with signs of canker and colored discharge on the trunks of old trees has been reported in northern Iran for the past two decades. Several bacteria of the order *Enterobacterales*, the family *Pectobacteriaceae* and the genus *Brenneria* were isolated and identified from diseased trees. Although oak possesses several genes whose products are responsible for plant resistance to fungal pathogens, bio-trophic pathogens, hemibiotrophic pathogens, and water stress, it does not show resistance to these necrotrophic pathogenic bacteria. The mechanism of the occurrence and epidemic of acute oak decay is the predisposition of trees to successive droughts, the outbreak of some pests, and the relatively low rate of development of oak defense genes against the high rate of evolution of pathogenic genes of necrotrophic bacteria such as *Brenneria* species. Due to the many climate changes in recent years, there may be an epidemic of the disease in the forests of other parts of the country in the future. This article describes research into the disease to pave the way for an appropriate method of disease management.

Keywords: Bacterium, *Brenneria*, Canker

✉ Meysambakhshi24@yahoo.com

مقاله ترویجی

بیماری زوال حاد بلوط

میثم بخشی گنجه✉

بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی کهگیلویه و بویراحمد، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، یاسوج

دریافت: ۱۴۰۰/۰۲/۰۹ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۱۷

بخشی گنجه م (۱۴۰۰) بیماری زوال حاد بلوط. دانش بیماری‌شناسی گیاهی ۱۱(۱): ۱۳۲-۱۲۲.
Doi: 10.2982/PPS.11.1.122.

چکیده

زوال حاد بلوط با نشانه های شانکر و تراوشات رنگی روی تنه درختان بالغ از دو دهه پیش در شمال ایران گزارش شده است. چند باکتری از راسته *Enterobacterales* ، تیره *Pectobacteriaceae* و جنس *Brenneria* از درختان بیمار جداسازی و شناسایی شده اند. بلوط هرچند که ژن‌های متعددی دارد که محصولات آنها مسئول مقاومت گیاه در برابر قارچهای بیمارگر، بیمارگرهای بیوتروف، همی‌بیوتروف و تنش‌های آبی هستند ولی مقاومتی در برابر این باکتریهای بیمارگر نکروتروف نشان نمیدهد. سازوکار بروز و شیوع بیماری زوال حاد بلوط، پیش آمادگی درختان در اثر خشکسالی‌های پیاپی، طغیان بعضی آفتها و سرعت به نسبت پایین تکامل ژنهای دفاعی بلوط در مقابل سرعت بالای تکامل فاکتورهای بیماری‌زایی باکتریهای نکروتروف نظیر گونه های *Brenneria* است. نظر به تغییرات آب و هوایی زیاد سالهای اخیر ممکن است در آینده شاهد شیوع بیماری در جنگلهای سایر مناطق کشور باشیم. پژوهشهای انجام شده در مورد بیماری در این مقاله شرح داده شده اند تا راه برای ارائه روش مناسب مدیریت بیماری هموار شود.

واژگان کلیدی: باکتری، شانکر، *Brenneria*

مقدمه

بلوط (*Qercus* spp. L.) از تیره *Fagaceae*، جنس بزرگی از درختان و درختچه‌ها است که با بیش از ۵۰۰ گونه، گسترش جهانی دارد (Johnson et al. 2009). درختان راش و بلوط از مهمترین درختان جنگلی ایران محسوب گردیده و چوب آنها دارای مصارف صنعتی است. زوال درختان اصطلاحی است که برای توصیف ضعف در سلامتی درختان مورد استفاده قرار می‌گیرد و نتیجه برهم‌کنش عوامل مختلفی است. نشانه متنوعی همراه با بیماری زوال بلوط از چندین کشور اروپایی گزارش شده است. قدرت درختان آلوده به مرور زمان و به نحو چشمگیری کاسته شده، شاخ و برگ آنها کاهش یافته و

✉ Meysambakhshi24@yahoo.com

دچار پیری برگ می‌گردند. در برخی از موارد زوال سریع و مرگ درختان آلوده نیز گزارش شده است (Denman and Webber 2009). فاصله زمانی بین شروع نشانه تا مرگ درخت قریب به ۴ تا ۵ سال می‌تواند باشد. زوال درختان جنگلی پدیده پیچیده‌ای است که نمی‌توان آن را تنها به یک عامل نسبت داد. عوامل زنده و غیر زنده متعددی به عنوان عامل بیماری زوال بلوط در اروپا و ایالات متحده مطرح شده‌اند که می‌توانند به صورت همزمان یا به دنبال یکدیگر در بروز بیماری نقش داشته باشند. ترکیب واقعی عوامل ایجادکننده زوال بلوط و اثرات آن‌ها بسته به مکان و زمان، متغیر خواهد بود. به گونه‌ای که همواره "زنجیره‌ای از عوامل منفی تأثیرگذار "، بدون تأکید قاطع بر یکی از آن‌ها، به عنوان عامل اصلی مطالعه شده است (Buck et al. 2004). عوامل تنش‌زای محیطی ممکن است با ایجاد شرایطی خاص (پیش‌آمودگی)، زمینه را برای غلبه یک یا چند عامل بالقوه بیماری‌زا که ممکن است قبلاً توانایی غلبه بر سدهای دفاعی گیاه را نداشته باشند، میسر سازد. دو نوع از این بیماری تا کنون در بریتانیا تشخیص داده شده است به طوریکه: نوع حاد تحت عنوان Acute Oak Decline (AOD) و نوع دیگر، شکل مزمن زوال بلوط Chronic Oak Decline (COD) نامیده شده است (Denman and Webber 2009). به منظور سهولت در تشخیص انواع زوال، سه جزء مشخص تعریف شده است: ۱) عوامل پیش‌آموده کننده (Predisposing factors) که عوامل طولانی مدت تنش‌زا هستند مانند اقلیم، خاک، کیفیت هوا، تنوع ژنتیکی و سن. ۲) عوامل تحریک‌کننده (Inciting factors) که عوامل کوتاه مدت مؤثر هستند، از جمله: از بین رفتن و تغییر شکل برگ ناشی از تغذیه حشرات، مه، خشکی، آسیب‌های مکانیکی و آلودگی هوا. ۳) عوامل دخیل در زوال (Contributing factors)، عوامل اندمیک طولانی مدت مؤثر، از جمله: سوسک‌های چوبخوار، قارچ‌ها و باکتری‌های مرتبط با شانکر و قارچ‌های پوساننده ریشه (Manion 1981) مدل‌های مانیون تاکید دارند که در پدیده زوال، تغییر اقلیم فاکتور پیش‌آموده کننده است و تغییرات اقلیمی متأثر از رفتارهای بشر، بر شیوع و شدت وقایع مربوط به زوال درختان نقش چشمگیری داشته است.

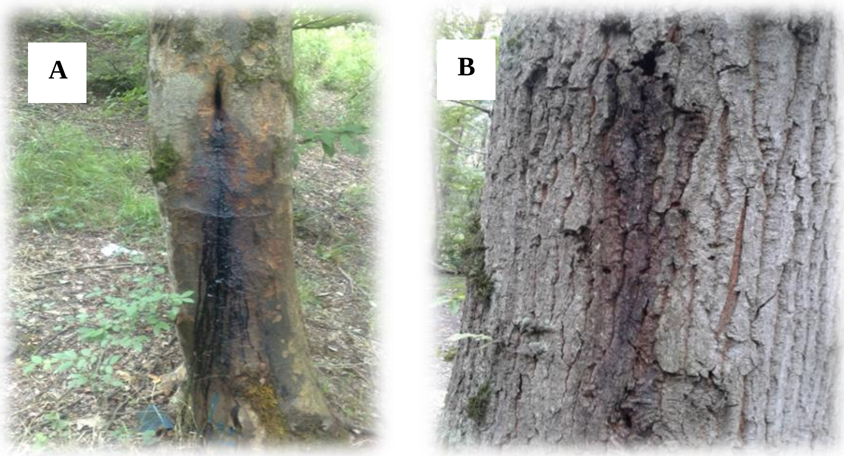
زوال مزمن بلوط

زوال مزمن بلوط (COD) نتیجه تعامل عوامل زنده و غیرزنده است که هر دوگونه بلوط بومی بریتانیا را مبتلا می‌کند. عوامل زنده مرتبط با این بیماری شامل تغذیه حشرات، گونه‌های مختلف قارچی هم‌چون قارچ عسلی (*Armillaria* spp.)، عوامل بیماری‌زای ریشه (*Phytophthora* spp.) و قارچ عامل سفیدک پودری (*Erysiphe alphitoides*) عنوان شده است (Thomas et al. 2002). از عوامل غیرزنده مرتبط با زوال مزمن بلوط می‌توان به: خشکی، مه، سطوح در حال افزایش ازون و تغییرات اقلیمی اشاره نمود. ویژگی اصلی زوال مزمن توسعه آرام بیماری است و به ندرت موجب مرگ درختان می‌شود. این بیماری

در مقایسه با بیماری حاصل از بیمارگر پرآزاری همچون *Ophiostoma* spp. (عامل زوال و مرگ درختان نارون Dutch Elm disease) موجب کاهش سلامت درخت گشته و نشانهی همچون تحلیل سایه‌بان درخت، مرگ سرشاخه، کاهش رشد، کاهش فعالیت فتوسنتزی و حذف ذخایر کربوهیدراتی درخت را موجب می‌گردد (Brasier 1991).

زوال حاد بلوط

مشابه با دیگر بیماری‌های زوال، زوال حاد بلوط نتیجه برهمکنش عوامل زنده و غیرزنده دخیل در بروز بیماری عنوان شده است. زوال حاد عمدتاً درختان بالغ را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در مقایسه با زوال مزمن که به ریشه درخت آسیب می‌رساند، زوال حاد در بافت‌های بالای سطح زمین و با کاهش سریع رشد درخت طی ۳ تا ۵ سال و معمولاً با طغیان همزمان سوسک چوبخوار *Agrilus biguttatus* همراه است. علامت مشخص زوال حاد بلوط، تراوش شیرابه روی شاخه و تنه درخت و نکروز وسیع بافت داخلی پوست است که در نهایت منجر به مرگ درخت می‌شود (Denman and Webber 2009). به‌طور کلی چهار علامت مشخص زوال حاد بلوط شامل: ۱) وجود تراوشات رنگی بر پوست خارجی درخت (شکل A۱)، ۲) نواحی نکروزه چوب داخلی، ۳) زخم‌های توسعه یافته بر تنه درخت (شکل 1B) و ۴) گالری‌های لاروی سوسک چوبخوار *A. biguttatus* که به‌طور متناوب (درصد همراهی بالاتر از ۹۰ درصدی با درختان آلوده) در بافت آوندی قابل مشاهده است (Denman et al. 2016, Bakhshi ganje et al. 2020) (شکل ۱).



شکل ۱. نشانه‌های زوال حاد بلوط در ایران: A- تراوشات رنگی بر پوست خارجی درخت، B- نواحی نکروزه چوب داخلی و زخم‌های توسعه یافته بر تنه درخت.

Figure 1. Symptoms of Acute Oak Decline in Iran: A- Colored exudates on the outer bark of the tree, B-The necrotic areas of the inner wood and developed wounds on the tree trunk.

تعدادی از باکتریهای بیماریزا به عنوان عامل یا همراه این بیماری از بلوط گزارش شده‌اند. برای تشخیص دقیق عامل بیماری شانکر و تراوش شیرابه از تنه درختان بلوط شمال ایران (*Quercus castaneifolia*) در استان‌های مازندران و گلستان، پس از تعیین ویژگی‌های فنوتیپی و ژنوتیپی و تجزیه و تحلیل فیلوژنتیک مبتنی بر چند جایگاه ژنی، همراهی باکتری‌های بیمارگر از جنس *Brenneria* مانند *B. goodwinii*، *Brenneria* sp. با نام جدید *B. izadpanahii* (Bakhshi ganje et al. 2021) و *Gibbsiella quercinecans* را از درختان بیمار برای اولین بار از این زیستگاه گزارش نمودند. فاکتورهایی نظیر میزان بارش سالیانه، دمای روزانه و رسوب خشک شده دی اکسید نیتروژن (dry NO_x deposition) در بروز بیماری مؤثر دانسته شده است (Denman, unpublished). در ایران تاکنون تلاشی در جهت بررسی نقش عوامل محیطی در ایجاد و توسعه بیماری انجام نشده است (Bakhshi ganje et al. 2020, Bakhshi ganje et al. 2016). در رویشگاه جنگلی زاگرس (استان ایلام) همراهی باکتری‌هایی نظیر *Bacillus pumilus*، *Stenotrophomonas maltophilia* و *B. goodwinii* با درختان دارای نشانه زوال گزارش شده است (Ahmadi et al. 2020). در مطالعه جامعی اقدام به جداسازی و شناسایی باکتری‌ها و قارچ‌های همراه با بافت‌های مختلف درختان آلوده، درختان دارای نشانه و درختان سالم شد (Denman et al. 2016). جمعیت‌های باکتریایی شناسایی شده در بافت‌های مختلف سه گروه از درختان مورد مطالعه، همبستگی بالایی را از نظر فراوانی و ترکیب جامعه میکروبی همراه از خود نشان دادند. به‌طوری که بیمارگرهای خانواده (Yersiniaceae و Pectobacteriaceae) Enterobacteriaceae سابق، بیشترین میزان همراهی را با درختان دارای آلودگی قطعی و درختان دارای نشانه داشته‌اند ولی گونه غالب بالقوه بیماری‌زا گزارش نشد. جمعیت‌های قارچی جداشده در گیاهان سالم و آلوده به تفکیک درصد بالایی از تفاوت‌ها در فراوانی و ترکیب جمعیتی را نشان دادند و همبستگی پایین آماری داشتند (Denman et al. 2016). از میان اعضا خانواده‌های *Pectobacteriaceae* و *Enterobacteriaceae* و دیگر گروه‌های باکتریایی تاکنون *Gibbsiella quercinecans, Brenneria goodwinni, B. rosea* subsp. *rosea, B. rosea* subsp. *americana, Lonsdalea quercina, G. greigi, Rahnella spp. Xylella fastidiosa, Pantoea agglomerans* به عنوان عامل یا همراه بیماری زوال از بلوط گزارش شده‌اند (Biosca et al. 2003, Brady et al. 2010, Denman et al. 2012). اخیراً، دو باکتری گرم مثبت از رده *Clostridoides* و جنس *Carnobacterium* sp. در درختان آلوده بلوط بریتانیا حضور داشته و فعالیت‌هایی را در سطح بیان ژن از خود نشان داده‌اند (Broeberg et al. 2018).

توالی ژنوم باکتریهای بیمارگر

تعیین توالی کل ژنوم (Whole Genome Sequencing-WGS) و روش‌های تفسیر سریع آن امکان

تعیین خصوصیات بیمارگرهای شناخته شده و بالقوه را پدید آورده است. معرفی نسل‌های جدید توالی یابی با تولید حجم بالایی از داده‌های ژنومی اقبال به سمت استفاده از آن‌ها را به عنوان یک ابزار کلیدی شناسایی تسریع کرده است. در ارتباط با بیمارگرهای نوین، این فناوری‌ها ابزاری جهت آشکارسازی جنبه‌های اساسی زیست‌شناسی موجود و ارتباط آن با میزبانش است. به عنوان مثال پروژه تعیین توالی کل ژنوم بیمارگر گیاهی *Pectobacterium atrosepticum* در سال ۲۰۰۴ جنبه‌های زیادی از ماهیت ناشناخته عوامل دخیل در بیمارگری بیمارگر را آشکار و در نهایت راهی جهت ایجاد گیاهان مقاوم به بیمارگر را موجب شد. توالی یابی کل ژنوم با امکان فهم ماهیت و ساز و کار بیمارگرهای باکتریایی با دقتی بالاتر، زمینه را برای ایده پردازی و طراحی آزمایش‌های آینده محقق می‌سازد (Hall 2013). بررسی پیچیدگی روابط میان باکتری‌های بیماری‌زا به عنوان یک جامعه مخلوط میکروبی و میزبان آن‌ها، تفسیر توالی‌های کدکننده در قالب گروه‌های ژنومی (Pangenomes) ژنومیکس-متاژنومیکس مقایسه‌ای، تجزیه و تحلیل فاکتورهای بیماری‌زایی (آنزیم‌های مخرب دیواره سلولی، سیستم‌های ترشحی، تولید و ترشح عمل‌گرها) در سایه پیشرفت‌های توالی‌یابی در مقیاس ژنوم و متاژنوم فراهم شده است. بررسی پروفایل متاژنومیکس (Metagenomics) جوامع میکروبی امکان مقایسه فراوانی کمی و کیفی میکروب‌ها و متابولیسم آن‌ها را از نمونه‌های مخلوط در میان همه شاخه‌های حیات فراهم آورده است. میکروب‌ها از جمله متنوع‌ترین ریزموجودات چه به لحاظ عملکرد و چه به لحاظ فیلوژنتیک در کره خاکی هستند. روش‌های مبتنی بر کشت ریزموجودات امکان مطالعه جدایه‌های میکروبی را در محیط‌های مصنوعی آزمایشگاهی با جزئیات فراوان فراهم کرده است. این در حالی است که روش‌های مولکولی غیر وابسته به کشت میکروب‌ها امکان مطالعه تمامی جوامع میکروبی را در محیط طبیعی‌شان بوجود آورده است. در حال حاضر بررسی پروفایل جوامع میکروبی با تکنیک‌های با عملکرد بالا (High Throughput Techniques) همچون تکثیر و توالی یابی ژن 16S rDNA، امری رایج و معمول تلقی می‌گردد (Gilbert et al. 2010). جوامع میکروبی گیاه (اصطلاحاً میکروبیوم) به عنوان یک فاکتور تعیین کننده کلیدی در سلامت و تولید گیاه مطرح هستند (Berendsen et al. 2012). از محدودیت‌های مطالعه بوم شناسی جوامع پیچیده میکروبی با استفاده از روش‌های سنتی تکثیر و توالی یابی، مبحث طراحی آغازگر است. روش‌های سنتی با آغازگرهای خاص عموماً برای ردیابی طیف خاصی از ارگانیسم‌ها کارایی دارد (Pinto and Raskin 2012). این در حالی است که آنالیزهای گسترده‌ای همچون متاژنومیکس (Metagenomics)، متاترنسکریپتومیکس (Metatranscriptomics) و متاپروتئومیکس (Metaproteomics) امکان دستیابی به حجم بالایی از اطلاعات در ارتباط با ژن‌های کدکننده مسیرهای خاص متابولیک و انواع غیر کدکننده RNA را نیز به پژوهشگران می‌دهند. متاژنوم، در دقیقترین مفهوم،

شامل مخلوطی از ژنوم تمامی ریزموجودات یک محیط خاص است. متاترنسکریپتوم یک جامعه میکروبی، در واقع تصویر لحظه‌ای طیف گسترده بیان ژن‌های آن جامعه است. در این روش به دور از مشکلات ناشی از طراحی آغازگر، امکان ردیابی ویروس‌ها نیز میسر است (Broeberg et al. 2018).

دستاوردهای نوین مطالعه بیماری زوال بلوط

حال به چگونگی گذار از مطالعات مبتنی بر کشت میکروبی به روش‌های نوین (ژنومیکس، متاژنومیکس، متاترنسکریپتومیکس و متاپروتئومیکس) و کاربرد آن در مطالعه بیماری زوال بلوط پرداخته می‌شود. در سال ۲۰۱۸، برای نخستین بار ماهیت چند میکروبی (Polymicrobial) عامل بیماری زوال بلوط که بر مبنای مطالعات اولیه گمان می‌رفت دو یا سه گونه باکتریایی بالقوه کاندیدای اصلی هستند به اثبات رسید. در این پژوهش با تاکید بر استفاده از فناوری‌های نوین توالی یابی و نظر به بازنگری در اصول کخ در اثبات بیماری‌زایی و پیچیدگی‌های موجود در مطالعه روابط میان میکروبی در جامعه هدف، ترکیبی از حالات مورد آزمون قرار گرفت. از آنجا که در مطالعات پیشین نقش هیچ‌یک از باکتری‌های مورد نظر به طور قطع به عنوان عامل بیماری به اثبات نرسیده بود ترکیبی از احتمالات بررسی و در نهایت مجموعه‌ای از باکتری‌های بیمارگر *B. goodwinii*، *G. quercinecans* و لاروهای سوسک چوبخوار *A. bigutatus* مطالعه و نتایج متقاعد کننده‌ای در اثبات بیماری پدیدار شد (Denman et al. 2018). فقدان اطلاعات ژنومی در بانک‌های داده و جداسازی گونه‌های جدید بالقوه لزوم شناخت محتوای ژنومی را انکارناپذیر می‌سازد. از طرفی داده‌های ژنومی در ادامه زمینه‌ای برای تفسیر داده‌های متاژنوم، متاترنسکریپتوم و متاپروتئوم جامعه میکروبی زوال بلوط است (Bakhshi ganje et al. 2021). بدین منظور توالی ژنومی چندگونه باکتری نظیر *B. goodwinii*، *G. quercinecans*، *Rahnella victoriana* و حتی گونه‌های تیپ جنس *Brenneria* نظیر *B. alni* و *B. salicis* با توالی یابی‌های نسل دوم و سوم (illumina و PacBio)، تعیین گشت. با بررسی محتوای ژنومی باکتری‌های جنس *Brenneria* (که عمدتاً بیمارگرهای گیاهان چوبی چندساله هستند) و سایر اعضای خانواده *Pectobacteriaceae* ضمن بررسی تاکسونومی اعضا شواهد نشان داد که کدام‌یک از فاکتورهای بیماری‌زایی و پرآزاری وجه تمایز گونه‌های این جنس از سایر اعضای خانواده *Pectobacteriaceae* بوده و از سویی دیگر کدام خانواده‌های ژنی، اعضای درون جنس را از هم متمایز کرده و چگونه ممکن است این نواحی ژنومی در سازگاری با میزبان‌های مختلف نقش داشته باشند. نتایج تفسیر توالی‌های کد کننده فاکتورهای بیماری‌زایی (آنزیم‌های مخرب دیواره سلولی، سیستم‌های ترشحی، جذب یون‌های آهن و تولید و ترشح عمل‌گرها) در این مطالعه تا حدود زیادی توان بالقوه باکتری‌های بیمارگر جنس *Brenneria* را در ایجاد بیماری در میزبان‌های مختلف نشان داد (Bakhshi ganje et al. 2021). زوال بلوط به عنوان اولین بیماری

گیاهی مورد تجزیه و تحلیل سیستمی قرار گرفته است. مثال‌هایی از این دست تنها در مطالعات دستگاه گوارش انسان قابل مشاهده است. به منظور رمزگشایی برهمکنش‌های جامعه میکروبی و درختان بلوط بریتانیا و چگونگی تبدیل میکروبیوم به پاتوبیوم در بافت‌های نکروزه، فاکتورهای فعال بیماری‌زایی بیمارگرهای باکتریایی از جمله آنزیم‌های مخرب دیواره سلولی، تاژک باکتریایی و برخی محافظت‌کننده‌ها در برابر گونه‌های فعال اکسیژن میزبان را به همراه پاسخ‌های دفاعی گیاه از جمله گونه‌های فعال اکسیژن، عوامل دخیل در تغییرات دیواره سلولی گیاه و تنظیم کننده‌های دفاع را بر اساس داده‌های Multi-omics مورد شناسایی قرار گرفتند (Broeberg et al. 2018). *B. goodwinii* غالبیت چشمگیری در پاتوبیوم با تولید و ترشح فاکتورهای بیماری‌زای بیمارگرهای باکتریایی همچون *avrE* از خود نشان داد. نکته شگفت انگیز تغییرات چشمگیر فعالیت‌های رونوشت برداری و پروتئینیِ درختان دارای نشانه در مقایسه با گیاهان سالم بود به طوریکه گیاهان سالم فعالیت طبیعی و از پیش شناخته شده خود را داشتند درحالیکه در تفسیر آنچه که در درختان آلوده اتفاق افتاده نقش پر رنگ بیمارگر *B. goodwinii* غیرقابل انکار است. در این مطالعه سیستمی، شواهدی مبنی بر دخالت پروتئین‌ها و ژن‌های مرتبط با سوسک‌ها و در کل حشرات و نقش آن‌ها در بیماری‌زایی یافت نشد (Broeberg et al. 2018). با بررسی محتوای ژنوم از یک سو و محتوای بیماری‌زایی (Virulence factors) طیفی از عوامل دخیل در بیماری به همراه نمونه‌های شناخته شده در هر سه سبکِ زندگی بیوتروفی، نکروتروفی و همی‌نکروتروفی از سویی دیگر، نقش محوری باکتری بیماری‌زای *B. goodwinii* به عنوان هسته مرکزی بیماری‌زایی در پاتوبیوم درختان بلوط بریتانیا به اثبات رسید. در تجزیه و تحلیل برهمکنش میزبان- جامعه بیمارگر-حشره، بیان ژن‌های بیماری‌زایی توسط باکتری *B. goodwinii*، برهمکنش آن با سایر اجزای باکتریایی میکروبیوم در فرآیند بیماری‌زایی در زوال حاد درختان بلوط بریتانیا نشان داده شد (Doonan et al. 2020).

تعیین محتوای ژنومی درختان بلوط و جامعه میکروبی همراه (Holobiont) و کاربرد آن در مطالعات برهمکنش باکتری بیمارگر- میزبان

امروزه مطالعه محتوای ژنومی درختان بلوط به دلیل اهمیت زیست محیطی و اقتصادی آن در دنیا و مواجهه آن با پدیده زوال، وضعیتی که می‌تواند در یک سناریوی تغییر آب و هوا اثرات مخرب بیشتری را نمایان سازد، مورد توجه قرار گرفته است. روش‌های توالی یابی در مقیاس ژنوم، ترنسکریپتوم و پروتئوم به همراه مطالعه محتوای متابولوم می‌تواند با تاکید بر روش‌های مبتنی بر انتخاب ژنوتیپ‌های برتر به کمک مارکرهای مناسب، به حل این مشکل کمک کنند و در نهایت تحمل و مقاومت بیشتری در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی و تغییرات آب و هوایی را سبب شوند. در همین راستا اولین ژنوم تعیین

توالی شده درختان بلوط (*Q. robur* L.) در سال ۲۰۱۶ در دسترس قرار گرفته (Plomion et al. 2016) و تا به امروز به تعداد آن افزوده شده است (مجموعاً سه گونه بلوط و یک گونه شاه‌بلوط تعیین توالی شده تا ابتدای سال ۲۰۲۲). در تکامل یک گونه گیاهی و استقرار آن در یک پهنه جغرافیایی نه تنها عوامل محیطی بلکه برهمکنش‌های میان میزبان- میکروبیوم (و حتی پاتوبیوم) اثر گذار است. بیمارگرهای غیر بومی (Exotic) در غیاب پویایی‌های تکامل همراه با میزبانان خود، خسارات جبران ناپذیری را موجب می‌گردند. با این حال مقاوت‌هایی چند در جمعیت‌های طبیعی از میزبان در برابر این عوامل مهاجم ممکن است روی دهد (Bartholome et al. 2020). درختان بلوط توالی‌های تکراری بیشمار و متناوبی (قریب به ۹٪ محتوای ژنومی-دو برابر موارد مشابه در سایر گیاهان) از ژن‌های دفاعی نوع nucleotide-binding site leucine-rich repeat (NB– LRR)-related protein genes و leucine rich repeats- receptor-like kinase (RLK)-encoding genes را در ساختار خود جای داده‌اند (Plomion et al. 2018)، اما این ژن‌ها و محصولات آن‌ها که از جمله در دفاع برابر بیمارگرهای قارچی، بیمارگرهای بیوتروف، همی‌بیوتروف و تنش‌های آبی مسئولند، مقاومتی را در برابر این بیمارگرهای نکروتروف انتروباکتریال موجب نمی‌گردند (Jones and Dangl 2006). نتایج تفسیر توالی‌های کدکننده فاکتورهای بیماری‌زایی (آنزیم‌های مخرب دیواره سلولی، سیستم‌های ترشحی، جذب یون‌های آهن و تولید و ترشح عمل‌گرها) تا حدود زیادی توان بالقوه باکتری‌های بیمارگر جنس *Brenneria* را در ایجاد بیماری در درختان بلوط نشان داد. افزون بر این تولید سطوح مختلفی از محصولات سیستم‌های ترشحی همچون حجم عمده‌ای از آنزیم‌های مخرب دیواره سلولیِ نوع پکتات لیاز و پکتات دی‌ساکارید لیاز در تعامل با گیاه میزبان (بلوط) پیش بینی شده است (Doonan et al. 2020, Bakhshi ganje et al. 2021). یادآوری این نکته ضروری است که تا درک کامل نقش عوامل مختلف (آنچنان‌که در مدل بیماری‌های نوع زوال همچون مدل مانیون شرح داده شد) در بروز و گسترش بیماری نیاز به انجام پژوهش‌های تکمیلی و عمیق بیشتری است. در بیماری‌شناسی گیاهی قدیمی، مفهوم بیمارگر در یک پاتوسیستم، یک مفهوم کلی و بدون توجه به ماهیت درونی عامل بالقوه بیماری‌زا تعریف شده است (به زبان ساده این که بیمارگر چه فاکتورهای بیماری‌زایی را در سطح زیرژنومی دارا می‌باشد که بیماری بروز می‌کند). به منظور اثبات بیماری‌زایی آن عامل بالقوه نیز اصول کخ، امری جدایی ناپذیر در روند مطالعه بیماری است. حال چنانچه چندین عامل بالقوه بیماری‌زا در یک پاتوسیستم موجود باشد، روند مطالعه بیماری و انواع میان‌کنش‌ها چگونه خواهد بود؟ در انگلستان با به‌کارگیری سطوح گسترده توالی‌یابی ژنوم، متاژنوم و متاترنسکریپتوم سعی بر آن شده است تا از یک سو در جهت تأیید مطالعات بیماری‌زایی (به‌روز کردن اصول کخ در اثبات بیمارگری سیستم‌های پیچیده چند میکروبی) و از سویی

دیگر بسوی تفسیر درستی از غالبیت بیمارگرهای جنس *Brenneria* در جامعه مخلوط میکروبی گام برداشته شود (Denman et al. 2018).

نتیجه‌گیری

گونه مهم بلوط آلوده شناسایی شده در ایران *Quercus castanifolia* در شمال و *Quercus brantii* در جنوب غربی ایران است ولی آلودگی تمامی گونه‌های بلوط در پهنه ایران دور از تصور نیست چرا که به طور مشابهی بر اساس گزارشهای موجود، در آغاز تصور می‌شد *Quercus robur* و *Quercus petraea* دو گونه بلوط میزبان بیماری زوال حاد در انگلستان هستند، تحقیقهای جدید احتمال میزبانی همه گونه‌ها همچون *Quercus. cerris* و *Quercus fabri* را تایید کرده است. نظر به پیشرفت‌های شگرف در سیستم‌های نوین توالی‌یابی پیشنهاد می‌شود به منظور حفاظت از این میراث ارزشمند ملی و جلوگیری از وقوع اپیدمی‌های ویرانگر، ضمن جداسازی و تعیین جمعیت‌های میکروبی همراه با درختان بیمار و سالم به کمک روش‌های مبتنی برکشت و متاژنوم، متاترنسکریپتوم و متاپروتئوم، تعیین توالی ژنوم گونه‌های بلوط بومی مقاوم یا نیمه‌مقاوم در اولویت قرار گیرند، تا راهکار مناسبی برای مدیریت بیماری در راستای ایجاد گیاهان مقاوم پی‌ریزی گردد.

References   منابع

1. Ahmadi S, Ghaderi F, Safaei D (2020) Oak charcoal rot disease in Iran. Plant Pathology Science 9:118-128. (In Persian with English Abstract).
2. Bakhshi ganje M, Mackay J, Nicolaisen M, Shams-Bakhsh M (2021) Comparative Genomics, Pangenome, and Phylogenomic Analyses of *Brenneria* spp., and Delineation of *Brenneria izadpanahii* sp. nov. Phytopathology 111:78-95.
3. Bakhshi ganje M, Shams-Bakhsh M, Mackay J, Rahimian H (2020) Identification and characterization of bacterial strains associated with diseased oak trees in Northern Iran. Forest Pathology 50:e12571.
4. Bakhshi ganje M, Rahimian H, Shams-Bakhsh M and Safaei N (2016) Identification and characterization of bacterial strains associated with oak symptomatic trees at northern Iran. Proceedings of the 22th Iranian Plant Protection Congress, Tehran, Iran, p.60.
5. Brady C, Denman S, Kirk S, Venter S, Rodríguez-Palenzuela P, Coutinho T (2010) Description of *Gibbsiella quercinecans* gen. nov., sp. nov., associated with Acute Oak Decline. Systematic and Applied Microbiology 33:444-450.
6. Bartholome J, Brachi B, Marçais B, Mougou-Hamdane A, Bodénès C, Plomion C, Robin C and Desprez-Loustau ML (2020). The genetics of exapted resistance to two exotic pathogens in pedunculate oak. New Phytologist 226:1088-1103.
7. Brasier CM (1991) *Ophiostoma novo-ulmi* sp. nov. causative agent of current Dutch elm disease pandemics. Mycopathologia 115:151–161.

8. Berendsen RL, Pieterse CM, Bakker PA (2012) The rhizosphere microbiome and plant health. Trends in Plant Science 17:478-486.
9. Biosca EG, González R, López-López MJ, Soria S, Montón C, Pérez-Laorga E López, MM (2003) Isolation and characterization of *Brenneria quercina*, causal agent for bark canker and drippy nut of *Quercus* spp. in Spain. Phytopathology 93:485-492.
10. Buck A, Burger B, Wolfrum G (2004) Forest research–challenges and concepts in a changing world. IUFRO Occasional Paper 16:1-79.
11. Broberg M, Doonan J, Mundt F, Denman S, McDonald JE (2018) Integrated multi-omic analysis of host-microbiota interactions in acute oak decline. Microbiome 6:1-15.
12. Denman S, Brady C, Kirk S, Cleenwerck I, Venter S, Coutinho T, De Vos P (2012) *Brenneria goodwinii* sp. nov., associated with acute oak decline in the UK. Society for General Microbiology 1-22.
13. Denman S, Doonan J, Ransom-Jones E, Broberg M, Plummer S, Kirk S, Scarlett, K, Griffiths AR, Kaczmarek M, Forster J, Peace A (2018) Microbiome and infectivity studies reveal complex polyspecies tree disease in Acute Oak Decline. The ISME Journal 12:386-399.
14. Denman S, Webber J (2009) Oak declines: new definitions and new episodes in Britain. Quarterly Journal of Forestry 103:285–290.
15. Denman S, Plummer S, Kirk S, Peace A, McDonald J (2016) Isolation studies reveal a shift in the cultivable microbiome of oak affected with Acute Oak Decline. Systematic and Applied Microbiology 39:484-490
16. Doonan, JM, Broberg M, Denman S, McDonald JE (2020) Host–microbiota–insect interactions drive emergent virulence in a complex tree disease. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences 287:20200956.
17. Gilbert JA, Meyer F, Jansson J, Gordon J, Pace N, Tiedje J, Knight R (2010) The earth microbiome project: meeting report of the “1 st EMP meeting on sample selection and acquisition” at Argonne National Laboratory October 6th 2010. Standards in Genomic Sciences 3:249-253.
18. Hall N (2013). After the gold rush. Genome Biology 14:1-3.
19. Jones JD, Dangl JL (2006). The plant immune system. Nature 444:323-329.
20. Manion P (1981) Fungi as agents of tree diseases: root rot. Tree Disease Concepts. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ, 295-309.
21. Pinto AJ, Raskin L (2012) PCR biases distort bacterial and archaeal community structure in pyrosequencing datasets. PloS One 7:e43093.
22. Plomion C, Aury JM, Amselem J, Leroy T, Murat F, Duplessis S, Faye S, Francillonne N, Labadie K, Le Provost G, Lesur I (2018) Oak genome reveals facets of long lifespan. Nature Plants 4:440-452.
23. Thomas FM, Blank R, Hartmann G (2002) Abiotic and biotic factors and their interactions as causes of oak decline in Central Europe. Forest Pathology 32:277–307.