Archive of SID

مجله پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد شانزدهم، شماره دوم، ۱۳۸۸
www.gau.ac.ir/journals

شناسایی و پراکنش ویروس لکه حلقوی بافت مرده هسته‌داران در استان گلستان

طیبه فلاح[1] و سعید نصراله‌نژاد[2]*

[1]دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،
[2]استادیار گروه گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۸۶/۱۱/۲۳ ؛ تاریخ پذیرش: ۸۷/۹/۱۱

چکیده

در سال‌های اخیر علایم بیماری‌های ویروسی روی درختان میوه هسته‌دار در استان گلستان به‌صورت حاد، در سطح وسیعی از باغات مشاهده شد. به‌منظور بررسی ویروس‌های مهم هسته‌داران، نمونه‌برداری طی فصل زراعی ۸۵-۱۳۸٤ از مناطق مهم کشت، صورت گرفت. نمونه‌برداری از درختان گیلاس، هلو، آلو، زردآلو و شلیل مشکوک به آلودگی که دارای علایم موزاییک، کلروز، لکه حلقوی، لکه غربالی، پیچیدگی، رنگ پریدگی حاشیه و ریز بودن برگ‌ها و کوتولگی درخت بودند، ۸۰۰ نمونه جمع‌آوری گردید و از طریق آزمون ساندویچ دوطرفه الایزا و با استفاده از کیت الایزای ویروس لکه حلقوی بافت مرده هسته‌داران، ویروس آبله‌ای آلو، کوتولگی آلو، پیچیدگی برگ گیلاس و موزاییک تمشک شناسایی‌ها صورت پذیرفت. نتایج تست‌های سرولوژیکی نشان داد از بین ۵ ویروس مذکور، آلودگی ویروس لکه حلقوی بافت مرده هسته‌داران در میزبان‌های آلو، هلو و شلیل مثبت، اما در نمونه‌های زردآلو و گیلاس منفی بود. هم‌چنین بالاترین میزان آلودگی در گنبد و علی‌آباد روی ارقام خارجی هلوی ٦۰ روزه (٦/۵۵ درصد) و شلیل ردگلد (۳/۲ درصد) به‌دست آمد.

واژه‌های کلیدی: آزمون ساندویچ دوطرفه الایزا، *Prunus necrotic ring spot virus*

* مسئول مکاتبه: tb_fllh@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

درختان میوه هسته‌دار مورد حمله گروه بزرگی از ویروس‌ها قرار می‌گیرند که باعث خسارت اقتصادی فراوان می‌شوند (سعد و همکاران، ٢٠٠٠). ویروس‌های نقش خطی آلو، برگ پیسه‌ای گیلاس، موزاییک هلو، موزاییک حلقوی زردآلو، پیچیدگی برگ گیلاس، پیسک حلقه سبز آلبالو، سرخابی میوه آلبالو، پیسک برگ هلو، زگیل هلو، کوتاهی دم میوه گیلاس و لکه حلقوی بافت مرده درختان میوه هسته‌دار از ویروس‌های گزارش شده روی هسته‌داران در جهان می‌باشند (اوگاوا و همکاران، ١٩٩٥؛ فرزادفر و همکاران، ٢٠٠٣). مهم‌ترین آن‌ها ویروس لکه حلقوی بافت مرده هسته‌داران[1]، ویروس آبله‌ای آلو[2]، ویروس موزائیک تمشک[3]، ویروس کوتولگی شلیل[4] و ویروس لوله‌ای شدن برگ گیلاس[5] می‌باشند. این ویروس‌ها، به تنهایی یا همراه با یکدیگر، روی راندمان میوه، بلوغ آن و رشد درخت تأثیر می‌گذارند (سعد و همکاران، ٢٠٠٠).

ویروس لکه حلقوی بافت مرده هسته‌داران و آبله‌ای آلو از مهم‌ترین بیماری‌های اقتصادی درختان میوه هسته‌دار در اروپا و آسیا می‌باشند که دارای گسترش جهانی هستند و تقریباً در تمام مناطق کشت درختان میوه هسته‌دار وجود دارند (سالم و همکاران، ٢٠٠٤؛ گلوسا و همکاران، ٢٠٠٤). در کالیفرنیای آمریکا، ویروس لکه حلقوی بافت مرده هسته‌داران روی هلو باعث کاهش ٢٢-٢٠ درصدی عملکرد و کاهش رشد درخت، تغییر رنگ میوه، تأخیر در بلوغ و رسیدگی میوه می‌شود (مینک و آچیلس، ١٩٨٤). PNRSV یک عامل بیماری‌زای مهم در بسیاری از گونه‌های چوبی است که باعث ایجاد لکه برگی‌های مختلف در هلو، گیلاس و رز و رازیانه (هاموند و کروسلینگ، ١٩٩٨) و بیماری‌های عامل موزاییک در سیب، آلو و رز (مینک و آچیلس، ١٩٨٤) می‌شود. بیماری آبله‌ای آلو (شارکا) که اغلب درختان میوه گوجه و آلو را مورد هجوم قرار می‌دهد، روی درختان زردآلو نیز دیده می‌شود. منشأ بیماری کشور بلغارستان است و در فرانسه برای اولین بار در سال ١٩٦٩در باغ‌های زردآلوی حوالی مون‌پلیه دیده شد (گلوسا و همکاران، ٢٠٠٤). در ایران نخستین بار PNRSV و PPV توسط معینی و ایزدپناه (٢٠٠٠) از استان اردبیل و دشت مغان گزارش شد. نمونه‌های طبیعی و آزمایشگاهی از طریق

1- *Prunus Necrotic Ring Spot Virus* (PNRSV)
2- *Plum Pox Virus* (PPV)
3- *Arabis Mosaic Virus* (ArMV)
4- *Prunus Dwarf Virus* (PDV)
5- *Cherry Leaf Roll Virus* (CLRV)

www.SID.ir

Archive of SID

آزمون ساندویچ دوطرفه الایزا[1] و با استفاده از کیت الایزای ویروس PNRSV و دو منبع از آنتی‌سرم ویروس PPV مورد آزمایش قرار گرفتند. اخیراً در بررسی‌های انجام شده برروی ویروس‌های رز، توسط رخشنده رو و همکاران (۲۰۰٦)، دو ویروس لکه حلقوی بافت مرده هسته‌داران و و موزاییک توت‌فرنگی تشخیص و گزارش گردید.

این ویروس در بسیاری از گونه‌های هسته‌داران، با دانه گرده، چه به‌صورت سطحی یا داخلی قادر است انتقال یابد. هم‌چنین انتقال این ویروس با کنه و نماتد نیز گزارش شده است. این بیماری بذرزاد است و توسط دانه گرده به دانه‌ها و گیاهان سالم منتقل می‌شود. میزان انتقال آن از طریق دانه گرده ۷۰ درصد گزارش شده است (اوگاوا و همکاران، ۱۹۹۵).

دامنه میزبانی این ویروس بیش از نه خانواده است. خانواده‌های آمارانتاسه، آپیاسه، کانابیناسه، کنوپودیاسه، کوکوربیتاسه، کومپوزیته، لگومنیزه، مالواسه، رزاسه، اسکروفولاریاسه و سولاناسه به این ویروس حساس هستند (حدیدی و کاندرس، ۲۰۰۱).

کوییر و همکاران (۲۰۰۱) علایم بیماری‌های ویروسی را در سطح وسیعی از باغات هسته‌داران کشور لبنان مشاهده کردند و جهت تشخیص این بیماری‌ها از روش آزمون ساندویچ دوطرفه الایزا و آزمون واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز برگشتی استفاده کردند. طبق بررسی‌های انجام شده توسط کوییر و همکاران (۲۰۰۱) از بین ویروس‌های مهم هسته‌داران، تنها سه ویروس لکه حلقوی بافت مرده هسته‌داران، ویروس آبله‌ای آلو و ویروس پیچیدگی برگ گیلاس به‌عنوان ویروس‌های رایج باغات لبنان شناخته شدند. طبق بررسی‌های انجام شده در تانزانیا با استفاده از گیاهان محک، روش آزمون ساندویچ دوطرفه الایزا، میکروسکوپ الکترونی و واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز، دو ایلار ویروس در بادام تشخیص داده شده‌اند. به‌علاوه، نوع ایزوله‌ها با روش زی‌سنجی و استفاده از گونه‌ها و رقم‌های مختلف خانواده کدوئیان تشخیص داده شد (بولیلا و مارچی، ۲۰۰۱). در سال‌های اخیر، ترکیبی از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز برگشتی و نوعی الایزا به همراه یک کاوش‌گر اختصاصی برای تشخیص PPV و PDV در آلو با موفقیت مورد استفاده قرار گرفت (شملول و همکاران، ۲۰۰۱). دو روش هیبریداسیون مولکولی و واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز برای تشخیص و ردیابی PNRSV در میزبان هسته‌داران و بگونیا با موفقیت انجام شد (ورما و همکاران، ۲۰۰۲).

1- DAS-ELISA

www.SID.ir

Archive of SID

سالم و همکاران (۲۰۰٤) از درختان میوه هسته‌داری که دارای علایم شبه ویروسی بود با روش‌های آزمون ساندویچ دوطرفه الایزا و واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز برگشتی، ویروس لکه حلقوی بافت مرده هسته‌داران را ردیابی کردند.

از آنجا که در سال‌های اخیر علایم حاد زردی، ریزش برگ و میوه و موزاییک مشکوک به بیماری‌های ویروسی در باغات استان گلستان مشاهده شد، لذا هدف ما از این تحقیق ردیابی به روش سرولوژیکی (به‌علت نداشتن امکانات لازم تست‌های مولکولی) و تعیین پراکنش بیماری‌های مهم ویروس هسته‌داران در استان گلستان بود که برای اولین بار در استان اقدام به این کار شده است.

مواد و روش‌ها

به‌منظور ردیابی و تشخیص ویروس‌های بیماری‌زای درختان میوه هسته‌دار طی فصل زراعی ۸۵-۱۳۸٤، از باغات درختان میوه علی‌آباد، فاضل‌آباد، گنبد، آزادشهر، مینودشت، گرگان، کردکوی و بندرگز، هر کدام با سطح زیر کشت ۷۰ تا ۳۰ هکتار، تعداد ۸۰۰ نمونه گرفته شد. بدین‌منظور از باغاتی که طی بازدیدهای مکرر، علایم بیماری‌های ویروسی در آن‌ها مشاهده شده بود و احتمال آلودگی به بیماری‌های ویروسی در آن‌ها وجود داشت، نمونه‌برداری صورت گرفت. در نمونه‌برداری به موازات اقطار باغ و از چهار طرف هر درخت، نمونه مرکب انتخاب گردید که شامل برگ‌های طبقه دوم و سوم درخت بودند. درختان مدنظر، دارای نشانه‌های مختلف بیماری‌های ویروسی از قبیل بدشکلی یا تغییر شکل برگ، پیچیدگی، نکروز و کلروز، انواع موزاییک، کوتولگی درخت و کوتاهی فاصله میان گره‌های سرشاخه، کوچک ماندن برگ‌ها، لکه حلقوی و لکه غربالی بودند. پس از جمع‌آوری، نمونه‌های برگی هر درخت، به‌طور جداگانه درون کیسه پلاستیکی و با قرار دادن روی یخ سریعاً به آزمایشگاه منتقل شدند. نمونه‌ها تا زمان عصاره‌گیری در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد و برای طولانی‌مدت در دمای ۲۰ تا ۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. طبق گزارش‌های مینک و آچیلس (۱۹۸٤) و بولیلا و مارچی (۲۰۰۱) آزمون ساندویچ دوطرفه الایزا در ردیابی ویروس‌های هسته‌داران بسیار موفقیت‌آمیز بوده است. بنابراین، از روش آزمون ساندویچ دوطرفه الایزا بر پایه روش کلارک و آدامز (۱۹۷۷) جهت تشخیص پنج ویروس مهم بیماری‌زای درختان میوه هسته‌داران شامل لکه حلقوی بافت مرده درختان میوه هسته‌داران، ویروس آبله‌ای آلو، ویروس کوتولگی آلو، ویروس پیچیدگی برگ گیلاس و

www.SID.ir

Archive of SID

ویروس موزاییک تمشک با استفاده از آنتی‌سرم پلی‌کلونال هر ویروس (خریداری شده از شرکت بیوربای سوییس) و به شرح ذیل انجام گردید.

ابتدا آنتی‌بادی اختصاصی هر یک از ویروس‌ها با بافر پوششی به نسبت یک به هزار (۱۰۰۰:۱) مخلوط شده و درون پلیت‌های الایزا از نوع تخت به اندازه ۱۰۰ میکرولیتر ریخته و به‌مدت ٤ تا ۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد یا در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد به‌مدت یک شب قرار داده شدند. در طی مدت زمانی‌که پلیت‌های حاوی آنتی‌بادی در انکوباتور قرار داشتند، از نمونه‌های جمع‌آوری شده عصاره‌گیری شد. استخراج عصاره از نمونه‌ها با اضافه کردن ده برابری وزن هر نمونه بافر استخراج انجام شد. پلیت‌های حاوی آنتی‌بادی پس از ٤ تا ۲ ساعت از انکوباتور خارج شده و با بافر شستشو و توسط دستگاه الایزا واشر BioTech مدل ELx50 سه دفعه شسته شده و خشک گردیدند. سپس نمونه‌های عصاره‌گیری شده به‌مقدار ۱۰۰ میکرولیتر به هر چاهک اضافه شده و سپس پلیت به‌مدت یک شب در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از طی این مدت، پلیت‌های حاوی عصاره یک بار با بافر شستشو و سه دفعه توسط دستگاه الایزا واشر شسته شده و خشک گردیدند.

جدول ۱- مناطق نمونه‌برداری از ارقام هسته‌داران در سال زراعی ۱۳۸٤-۱۳۸۵.

محل نمونه‌برداری	نام باغداران	نوع علایم	تعداد نمونه
گرگان	گرامیان، بنیاد، رضایی، حسن‌نژاد	پیچیدگی، لکه غربالی و نکروز برگ	۱۰۰
گنبد	اسکویی، شرکت صحرا ۱ و ۲	ریزش میوه، لکه غربالی و بدشکلی برگ	۱۰۰
کردکوی	طیبی، عقیلی	ریزش میوه، لکه غربالی و بدشکلی برگ	۱۰۰
علی‌آباد	حاجی‌کلاته ۱ و ۲، ارازگل و پورزندی	ریزش و نکروز پوست میوه، لکه غربالی و موزاییک برگ	۱۰۰
فاضل‌آباد	امینی، تهرانیان، پیوندی	ریزش میوه، لکه غربالی و بدشکلی برگ	۱۰۰
آزادشهر	عقیلی، امین‌زاده	نکروز میوه و بدشکلی برگ	۱۰۰
مینودشت	امیری، خرمالی و پورقاز	ریزش میوه، لکه غربالی برگ	۱۰۰
بندرگز	متکی، طیبی و رضایی	ریزش میوه، لکه غربالی و بدشکلی برگ	۱۰۰

سپس آنتی‌بادی نشان‌دار شده به آنزیم هر ویروس با بافر کانجوگیت به نسبت ۱۰۰۰-۱ مخلوط شده و ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد از آن به هر یک از چاهک‌های پلیت‌های پلی‌استایرین اضافه و سپس پلیت‌ها به‌مدت ٤ تا ۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از طی این مدت،

www.SID.ir

Archive of SID

پلیت‌های حاوی آنتی‌بادی نشان‌دار شده به آنزیم سه دفعه توسط بافر شستشو و با دستگاه الایزا واشر شستشو داده شده و خشک گردیدند. سپس محلول سوبسترا (ماده سوبسترا شامل پارانیتروفنل فسفات) اضافه گردید. در صورت استفاده از قرص سوبسترا، یک قرص به وزن ۲۰ میلی‌گرم در ۲۰ میلی‌لیتر بافر سوبسترا حل شده و ۱۰۰ میکرولیتر از آن در هر یک از چاهک‌ها ریخته شدند. پس از ریختن سوبسترا، پلیت‌ها ۳۰ دقیقه در دمای محیط و مکان تاریک قرار داده شدند و سپس میزان جذب نوری چاهک‌ها با استفاده از لایزا ریدر[1] BioTech مدل ELx800 در طول موج ٤٠٥ نانومتر قرائت گردید. جذب نوری چاهک‌های به‌دست آمده در قالب طرح کامل تصادفی نامتعادل آنالیز شد. مقایسه میانگین داده‌ها در آزمون چند دامنه‌ای دانکن مورد ارزیابی قرار گرفتند. آنالیز و تجزیه واریانس در آزمون دانکن با ۸ تیمار (شهرستان‌های مختلف استان) در ۲۰ تکرار (۵ نمونه مرکب از چهار طرف هر درخت) میزان جذب نور در طول موج ٤٠٥ نانومتر مربوط به هر نمونه صورت گرفت.

نمونه‌ها براساس تغییر رنگ آن‌ها نسبت به رنگ چاهک‌های کنترل منفی مقایسه شدند، به‌طوری‌که میانگین عدد به‌دست آمده از سه چاهک کنترل منفی (اعداد مربوط به سه چاهک که کمترین عدد را در میان سایر چاهک‌ها داشته‌اند)، یک بار در ۲ و یک بار در ۳ ضرب گردید. چاهک‌هایی‌که عدد خوانده شده آن‌ها پایین‌تر از عدد حاصل از دو برابر میانگین کنترل منفی بودند، از نظر آلودگی به نمونه‌های کاملاً سالم تعلق داشتند و به‌عنوان واکنش منفی تلقی شدند. چاهک‌هایی که عدد خوانده شده آنها بالاتر از عدد حاصل از سه برابر میانگین کنترل منفی بودند از نظر آلودگی به ویروس مثبت و نمونه‌های صد درصد بیمار تلقی شدند. چاهک‌هایی نیز که دارای اعدادی مابین این دو عدد (اعداد بین دو برابر میانگین کنترل منفی تا سه برابر کنترل مثبت) بودند، به‌عنوان نمونه‌های احتمالاً آلوده (مشکوک) در نظر گرفته شدند. بنابراین، لازم بود مجدداً مورد آزمایش قرار گیرند.

نتایج و بحث

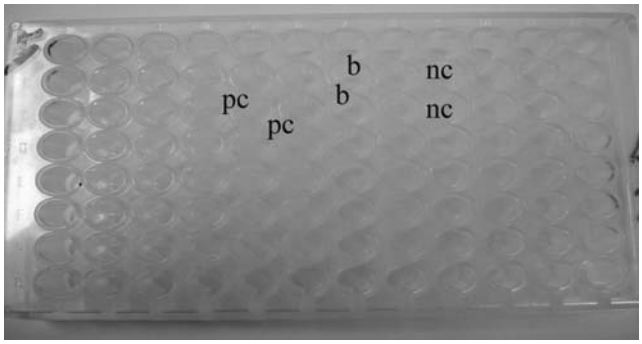
نتایج بررسی‌ها روی ۸۰۰ نمونه مشکوک به بیماری که در فصول مختلف سال ۸۵-۱۳۸٤ گرفته شده بودند نشان داد که پلیت‌های دارای چاهک‌هایی با انتهای تخت (میزان جذب نور ٦/٥) نسبت به پلیت‌های با انتهای مقعر (میزان جذب نور ٤/٣٢) متوسط شدت رنگ بالاتری داشتند. این پلیت‌ها از لحاظ جنس با هم متفاوتند. در پلیت‌های تخت، میزان چسبندگی آنتی‌بادی به سطوح پلیت و نیز

1- ELISA Reader

www.SID.ir

Archive of SID

اتصال آنتی‌بادی و آنتی‌ژن بیشتر از پلیت‌های با انتهای مقعر می‌باشد. این نتایج با نتایج کلارک و آدامز (۱۹۷۷) مطابقت دارد. بنابراین توصیه می‌شود برای تست سرولوژیکی نمونه‌های ویروسی از پلیت‌های با انتهای تخت استفاده گردد.



شکل ۱- پلیت الایزا: چاهک‌های رنگ گرفته نشان‌دهنده وجود PNRSV است.
کنترل مثبت pc، کنترل منفی nc و بلانک b.

شکل ۲- علایم PNRSV در روی برگ (سمت راست) و میوه آلو (سمت چپ) (اصلی).

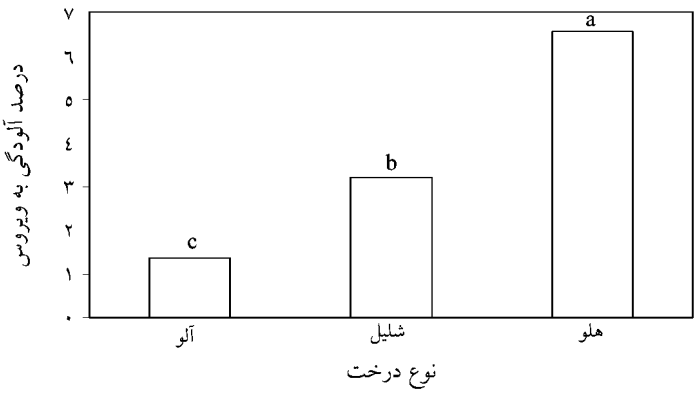
نتایج آزمون سرولوژیک برروی نمونه‌های جمع‌آوری شده، وجود ویروس PNRSV را از بین پنج ویروس قرنطینه‌ای PNRSV، PDV، CLRV، ArMV و PPV اثبات کرد. علایم مشاهده شده در نمونه‌های آلوده به PNRSV به‌صورت لکه‌های نکروز، رنگ‌پریدگی و موزاییک برگ‌های هلو و شلیل و در آلو به‌صورت نکروز، رنگ‌پریدگی و پارگی برگ و نقاط فرو رفته نکروز که روی میوه با ریزش آنها همراه بود، مشاهده شد (شکل ۲). در مشاهدات سایر محققان علاوه‌بر علایم

www.SID.ir

Archive of SID

مذکور، علایم فرورفته نکروز در روی تنه هلو و گیلاس دیده شد (بارابارا، ۱۹۸۰). با بررسی‌های انجام گرفته در الجزایر، علایم موزاییک روی برگ‌ها، کوتولگی، زوال، نکروز جوانه‌ها و زخم در سرشاخه‌ها دیده شد (آویان، ۲۰۰۰) که با علایم مشاهده شده در استان (شهرستان‌های علی‌آباد، گنبد و فاضل‌آباد) تقریباً مطابقت دارد.

نتایج تجزیه واریانس مقایسه میانگین آلودگی‌ها در تست‌های سرولوژیک در آزمون دانکن نشان داد که از بین ۸۰۰ نمونه از درختان هلو، شلیل و آلو، هلو بیشترین میانگین آلودگی (٦/٥٥٦٧ درصد) و آلو کمترین آلودگی (۱/۳۷۷۵ درصد) را نسبت به PNRSV دارا بودند. نمودار مقایسه میانگین (شکل ۳) نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد (P<۰/۰۵) بین آلو، شلیل و هلو می‌باشد.



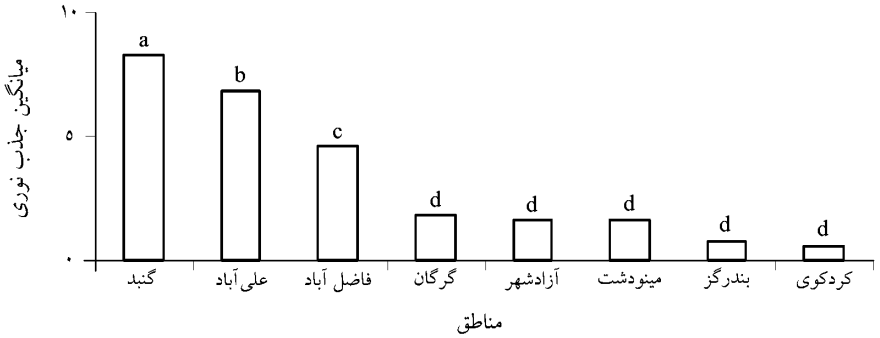
شکل۳- نمودار مقایسه میانگین آلودگی به PNRSV درختان هلو، شلیل و آلو.

ردیابی ویروس در مناطق: نتایج آنالیز واریانس و مقایسه میانگین با آزمون دانکن در ۸ تیمار (شهرستان‌های مختلف استان) در ۲۰ تکرار نشان داد که بین باغات مختلف استان در سطح احتمال ۵ درصد (P<۰/۰۵) اختلاف معنی‌داری وجود دارد (شکل ٤) به‌طوری‌که بیشترین آلودگی مربوط به باغات شهرستان گنبد (۸/۳ درصد) و کمترین آن مربوط به کردکوی (۰/۵ درصد) بوده است. دلیل اصلی بالا بودن میزان آلودگی در گنبد و علی‌آباد وجود باغات با ارقام خارجی حساس مثل هلوی شصت روزه و زعفرانی، آلوی شابلون دیررس و شلیل ردگلد می‌باشد. احتمالاً شروع آلودگی با ورود این ارقام خارجی از کشورهای اروپایی بوده است. احتمالاً علت دیگر، طرز کاشت درختان هسته‌دار

www.SID.ir

Archive of SID

در منطقه گنبد و علی‌آباد است که در این مناطق غالباً به‌صورت تک رقم در اکثر باغات مشاهده می‌شود، در حالی‌که در مناطق آزادشهر، کردکوی، مینودشت و گرگان کاشت درختان میوه هسته‌دار به‌صورت توأم با مرکبات و به‌صورت یک در میان با ارقام مختلف هسته‌داران است. از نظر پراکنش بیماری در استان بالاترین آلودگی مربوط به باغات شهرستان گنبد و کمترین آن مربوط به کردکوی و بندرگز بوده است. بنابراین با توجه به نتایج فوق توصیه می‌گردد برای احداث نهالستان و گرفتن پیوندک از درختان ارقام آلوده گنبد خودداری شود. هم‌چنین به باغداران و سازمان قرنطینه کشور توصیه می‌گردد در واردات پایه‌های درختان میوه دقت بیشتری مبذول گردد، زیرا اکثر ویروس‌های گیاهی از راه نهال و پایه‌های آلوده قادرند به راحتی انتقال یابند. اگرچه، این ویروس مهم هسته‌داران که در سال‌های گذشته به‌عنوان ویروس قرنطینه‌ای کشور بوده از طریق نهال و پایه‌های آلوده ارقام خارجی به ایران آمده است.



شکل ٤- مقایسه میانگین آلودگی باغات مناطق مختلف استان.

نتایج فوق توسط محققان قبلی از جمله (ماری و همکاران، ۲۰۰۰) نیز گزارش شده است. بنابراین توصیه می‌گردد کاشت ارقام هسته‌داران به‌صورت مخلوط با چند رقم یا مخلوط با مرکبات کاشته شوند. به‌علاوه، اکثر نهال‌های این مناطق از مغان آورده شده‌اند که طبق گزارش‌های قبلی (معینی و ایزدپناه، ۲۰۰۰) آلودگی درختان میوه هسته‌دار به ویروس PNRSV در این منطقه محرز شده است. از آن‌جا که این ویروس از طریق بذر، نهال و پیوند قابل انتقال می‌باشد، بنابراین توصیه می‌گردد که ضمن رعایت قوانین قرنطینه گیاهی، از ورود نهال‌های آلوده به باغ یا منطقه جداً خودداری گردد و نیز

www.SID.ir

Archive of SID

پیوندک از درختانی انتخاب شود که عاری از بیماری ویروسی بوده و یا اندکس شده باشند. در سال‌های اخیر، استفاده از روش کشت بافت منجر به تولید گیاهان عاری از ویروس شده است.

منابع

1.Auane, B. 2000. Preliminary studies on stone fruit tree viruses in Algeria. Inistitut Technique de Arboriculture Fruitiere et de la Vigna. Pp: 29-32.

2.Barbara, D.G. 1980. Detection PNRSV in Rosaceous hosts by ELISA. Acta Phytopathol. ACAD. Sci. Hung, 15: 326-332.

3.Boulila, M., and Marrachi, M. 2001. Detection and characterization of stone fruit virus diseases in Tunisia. Plant Dis, 40: 125-136.

4.Choueir, E.N., Sabanadzovic, A.G., Zammar, E., and Jrejiri, F. 2001. Virus of stone fruit trees in Lebanon. Plant Dis, 98: 20-27.

5.Clark, M.F., and Adams, A.N. 1977. Characteristics of the micro plate method of Enzyme-Linked-Emmunosorbent Assay for the detection of plant viruses. J. Gen. Virol, 34: 475-483.

6.Farzadfar, S., Golnaraghi, A., and Porrahim, R. 2003. Plant viruses in Iran. Saman Tehran Publication, 203p.

7.Glosa, M., Palkovics, L., Kominek, P., Looney, G., and Subs, Z. 2004. Geographically and temporally distant isolates of Plum Pox Virus (PPV) are genetically very similar and a unique PPV subgroup. J. Gen. Virol, 85: 2671-2661.

8.Hadidi, A., and Candresse, T. 2001. Plum pox. P 788-791. In: Encyclopedia of Plant Pathology, Maloy, O.C., and Murray, T.D. eds. John Wiley and Sons, Inc., New York.

9.Hammond, R., and Crosslin, J. 1998. Virulence and molecular polymorphism of Prunus necrotic ring spot virus isolates. J. Gen. Virol. 79: 1815-1823.

10.Maury, B., Cardin, L., Onesto, J.P., Candresse, T., and Poupet, A. 2000. Enzyme Linked Immunosorbent Assay testing of shoots grown in vitro and use of Immunocapture-Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction improve the detection of *Prunus necrotic ring spot virus* in Rose. Phytopathol. 90: 522-528.

11.Mink, G.I., and Achilles, M.D. 1984. Detection of Prunus necrotic ring spot and Prune dwarf viruses in Prunus seed and seedlings by ELISA. Plant Dis. 68: 378-381.

12.Moini, A., and Izadpanah, K. 2000. Serological detection of Sharka and Prunus necrotic ring spot viruses in Moghan. Proceedings of the 14th Conference of Plant Protection, Tehran, Iran, 338p.

13.Ogawa, J.M., Zehr, G.W., Bird, D., and Ritchie, F. 1995. Compendium of Stone Fruit Diseases. APS Press, St. Paul, MN. 120p.

www.SID.ir

Archive of SID

14.Rakhshandehroo, F., Zamani Zadeh, H.R., Modarresi, A., and Hajmansoor, S. 2006. Occurrence of Prunus necrotic ring spot virus and Arabis mosaic virus on Rose in IRAN. Plant Dis. 90: 975.
15.Saad, M., Aparicio, F., Sanchez-Navarro, J.A., Herranz, M.C., Myta, A.D., Terlizzi, B.D., and Pallas, V. 2000. Simultaneous detection of the tree ilarvirus affecting stone fruit trees by nonisotopic molecular hybriedization and multiplex-reverse-transcription-polymerase-chain-reaction. Phytopathol. 90: 1330-1336.
16.Salem, N., Mansour, A., and Musa, AL. 2004. Identification and partial characterization of PNRSV on stone fruits in Jordan. Plantpathol, 86: 85-90.
17.Shamloul, A.M., Abdallah, M.A., Madkour, M.A., and Hadid, A. 2001. Sensitive detection of the Egyptian species of Sugarcane streak virus by PCR-probe capture hybridization (PCR-ELISA) and its complete nucleotide sequence. J. Virol. Methods. 92: 45-54.
18.Verma, N., Hallan, V., Ram, R., and Zaidi, A.A. 2002. Detection of PNRSV in begonia by RT-PCR. Plant Pathol. 51: 80-89.

www.SID.ir

Archive of SID

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

J. of Plant Production, Vol. 16(2), 2009
www.gau.ac.ir/journals

Detection and distribution of PNRSV on stone fruits in Golestan province

***T. Fallah[1] and S. Nasrollanejad[2]**

[1]Former M.Sc. student, Dept. of Plant Protection, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, [2]Assistant Prof., Dept. of Plant Protection, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Abstract

In recent years, symptoms of virus diseases on stone fruits have been observed in wide range in Golestan province. In order to study the important viruses on stone fruits, cherry, plum, nectarine, peach and apricot trees with symptoms such as mosaic, chlorosis, ring spot, shot hole, pale margins in leaves and dwarf in trees, Sampling was done during 2005. Putative infected plants were tested by DAS-ELISA kits respected to PNRSV (*Prunus necrotic ring spot virus*), PPV (*Plum pox virus*), PDV (*Prune dwarf virus*), CLRV (*Cherry leaf roll virus*) and ArMV (*Arabis mosaic virus*). Positive results were obtained for PNRSV in peach, nectarine and plum, but not in cherry and apricot. The most infected regions were Aliabad and Gonbad with the highest infection rate in foreign cultivar peach (6.55%) and red gold nectarine (3.22%).

Keywords: DAS-ELISA, *Prunus necrotic ring spot virus*

* Corresponding Author; Email: tb_fllh@yahoo.com

www.SID.ir