جمهوری اسلامی ایران

وزارت جهاد کشاورزی

سازمان حفظ نباتات کشور

راهنمای شناسائی و ردیابی

آفت قرنطینه خارجی

بیماری فیتوپلاسمائی زردی هلو

Peach yellows phytoplasma

Acholeplasmatales:Acholeplasmataceae

تهیه و تنظیم:

احمد چراغیان

دفتر پایش و تحلیل خطر

1404

بیماری فیتوپلاسمائی زرد ی هلو

Peach yellows phytoplasma

Domain: Bacteria
Phylum: Firmicutes
Class: Mollicutes
Order: Acholeplasmatales
Family: Acholeplasmataceae

Other scientific names:

Peach yellows virus, Peach yellows mycoplasma-like organism, Peach yellows MLO

Common name:

Peach yellows, little peach

.

اهمیت اقتصادی:

زردهای هلویی در قرن نوزدهم، زمانی که موضوع تحقیقات کلاسیک اروین اسمیت و برخی از اولین اقدامات قانونی علیه یک بیماری گیاهی (قانون زردهای میشیگان 1875) بود، در ایالات متحده آمریکا ضررهای جدی داشتند (Ainsworth، 1981). شیوع شدید تا اوایل قرن بیستم ادامه یافت، اما این بیماری در حال حاضر عملا ناپدید شده است، عمدتا به دلیل اقدامات کنترل موثر. پاین و گیلمر (1976) خاطرنشان می کنند که در گذشته، زردی هلویی تمایل داشتند از یک الگوی چرخه ای در مناطق بزرگ کشت هلو پیروی کنند.

.

میزبانها:

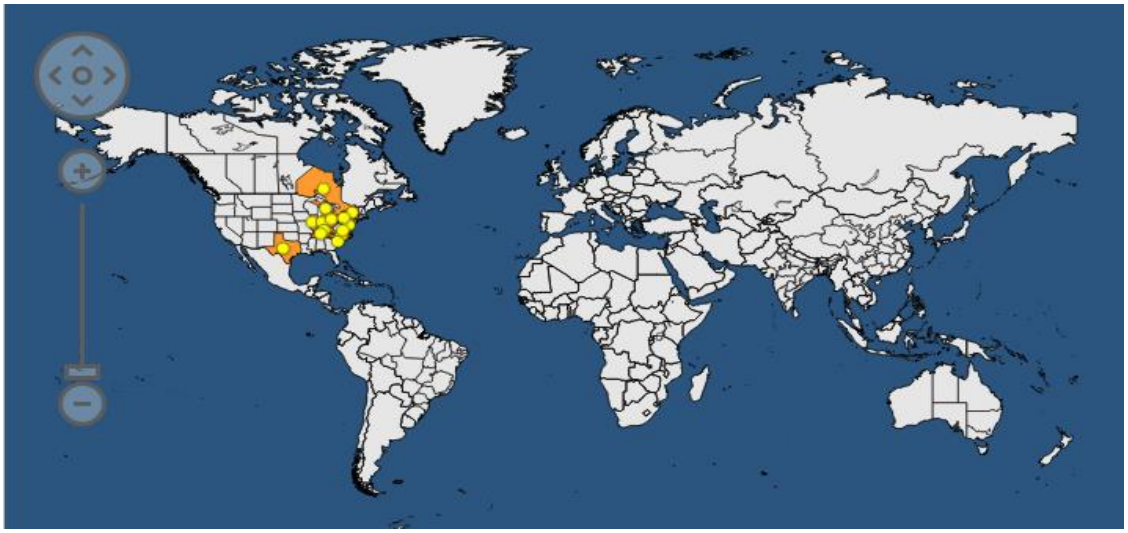
درختان هلو مهمترین میزبان این بیماری می باشند، لیست کلی میزبانها به شرح ذیل می باشد

Major hosts: *Prunus armeniaca* (apricot), *Prunus dulcis* (almond), *Prunus persica* (peach))

.

پراکنش جغرافیائی:

آمریکای شمالی : امریکا،کانادا



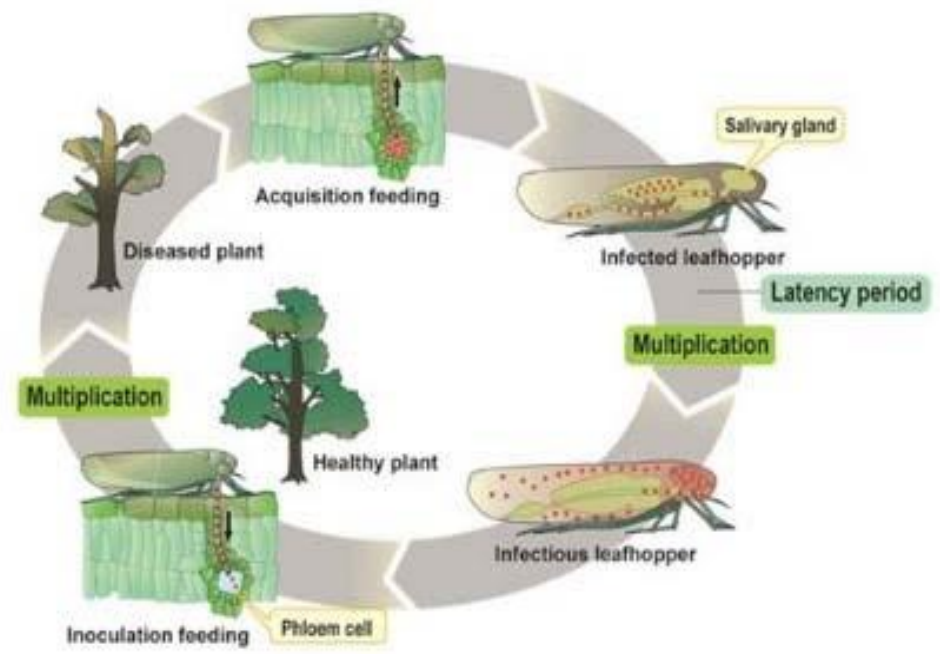
نقشه پراکنش بیماری فیتوپلاسمائی پیچیدگی زرد برگ هلو

زیست شناسی:

فیتوپلاسما توسط یک زنجره به نام *Macropsis trimaculata* منتقل می شود. دوره نهفتگی آن در درختان باغ 3-1 سال یا در گلخانه کمتر از 60 روز است. در ناقل، میانگین دوره کمون 16 روز است (Gilmer, 1976 & Pine).

بیماری های هلو که به نام هلو کوچک و بخیه قرمز شناخته می شوند توسط سویه های مشخصی از فیتوپلاسمای زرد هلو ایجاد می شوند. بخیه قرمز ظاهراً توسط *M. trimaculata* منتقل نمی شود، اگرچه به طور طبیعی پخش می شود.

با مطالعات میکروسکوپ الکترونی جونز و همکاران نشان داده شد که عامل زردهای هلو یک فیتوپلاسما است. (1974). آزمایشات بیومولکولی اکنون قرابت واضح آن را با فیتوپلاسمای بیماری X هلو نشان می دهد.



Phytoplasma Life Cycle

علائم خسارت:

جوانه های برگ، حتی آنهایی که به طور معمول باید خاموش بمانند، زودتر از موعد رشد می کنند. برگها زرد و کوتوله هستند و درخت شاخه های دوکی شکل می دهد. در مرحله پیشرفته بیماری، نوک ساقه از بین می رود. میوه ها چند روز تا 3 هفته قبل از میوه های سالم بالغ می شوند و ممکن است بزرگتر از حد معمول باشند. آنها کیفیت پایینی دارند و معمولا طعم تلخی دارند. درختانی که به شدت آسیب دیده اند در عرض 2-3 سال می میرند اما بقای 6 سال یا بیشتر امکان پذیر است (پاین و گیلمر، 1976؛ کرک پاتریک، 1995).

بیماری ناشی از سویه کوچک هلو کمی متفاوت است. در ابتدای فصل رشد، شاخ و برگ سبزتر است و تکثیر برگ ها در شاخه های کناری کوتاه، ظاهری بوته ای به درخت می دهد. برگها در طول فصل کلروتیک می شوند. علائم ابتدا روی یک شاخه یا بخشی از درخت دیده می شود و سپس به کل درخت سرایت می کند. میوه ها تا 3 هفته دیرتر از میوه های سالم می رسند و کوچک و بی مزه هستند. گودال ها کوچک هستند و هسته ها یا توسعه نیافته اند یا قادر به جوانه زدن نیستند (پاین و گیلمر، 1976).

علائم در قسمت آسیب دیده گیاه

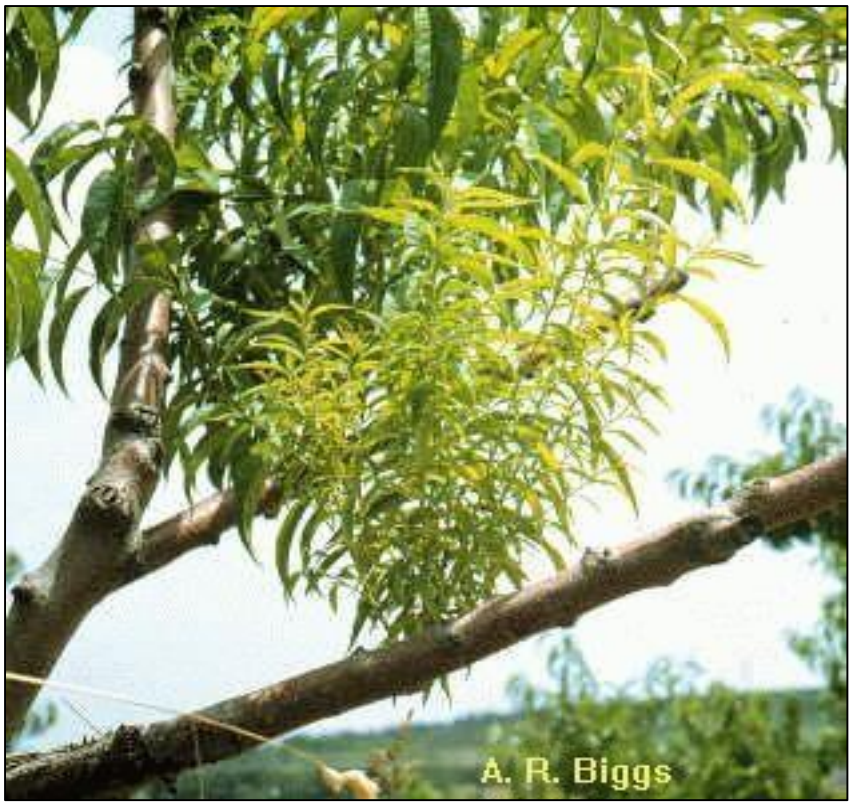
میوه ها/غلاف ها: شکل غیر طبیعی. تغییر رنگ

برگ ها: رنگ های غیر طبیعی؛ اشکال غیر طبیعی؛ زرد شده یا مرده

ساقه: رشد غیر طبیعی از بین رفتن

گیاه کامل: گیاه مرده؛ از بین رفتن کوتوله شدن؛ پیری زودرس

peach yellows phytoplasma. (Eric Boa)



Symptoms on a peach tree:abnormal growth and discoloration caused by

1.2 Suspected peach yellows (left), phytoplasma disease. Leaves are smaller than on healthy trees. *Prunus persica*, Camargo, Bolivia.

Peach yellows (Phytoplasma)

Photographer:	*Charles Drake*
Organization:	*Virginia Polytechnic Institute and State University*
Descriptor:	*Symptoms*
Image type:	*Field*
Host:	*peach (Prunus persica (L.) Batsch)*

Symptoms on peach:abnormal fruits and discoloration caused by peach yellows phytoplasma

Red suture on peach caused by peach yellows phytoplasma

Symptoms on peach:abnormal fruits caused by peach yellows phytoplasma

Means of movement and dispersal

راههای انتقال و انتشار:

فیتوپلاسما توسط زنجره *Macropsis trimaculata* (Kunkel, 1933) منتقل می شود. دوره نهفتگی آن در درختان باغ 3-1 سال یا در گلخانه کمتر از 60 روز است. در ناقل، میانگین دوره کمون 16 روز است (پاین و گیلمر، 1976). ظرفیت ناقل، *Macropsis trimaculata*، برای پراکندگی فیتوپلاسما فقط محلی است. این پاتوژن به احتمال زیاد در سطح بین المللی در مواد کاشت و تکثیر آلوده یا احتمالاً در ناقلان حمل شده روی گیاهان پخش می شود.

قطعات گیاهی که می توانند آفت را در تجارت/حمل و نقل حمل کنند

- پوست درخت: در داخل حمل می شود. زیر میکروسکوپ نوری قابل مشاهده است
- میوه ها (شامل غلاف): به صورت داخلی. زیر میکروسکوپ نوری قابل مشاهده است
- گل / گل آذین / مخروط / کاسه گل: در داخل حمل می شود. زیر میکروسکوپ نوری قابل مشاهده است
- برگ: در داخل بدن حمل می شود. زیر میکروسکوپ نوری قابل مشاهده است
- نهال/گیاهان ریز ازدیاد: تولید داخل. زیر میکروسکوپ نوری قابل مشاهده است
- ریشه ها: در داخل متحمل می شوند. زیر میکروسکوپ نوری قابل مشاهده است
- ساقه (بالای زمین) / ساقه / تنه / شاخه: حمل داخلی. زیر میکروسکوپ نوری قابل مشاهده است

اجزای گیاهی که برای حمل آفت در تجارت/حمل و نقل شناخته نشده اند

- رشد گیاهان همراه متوسط

-چوب

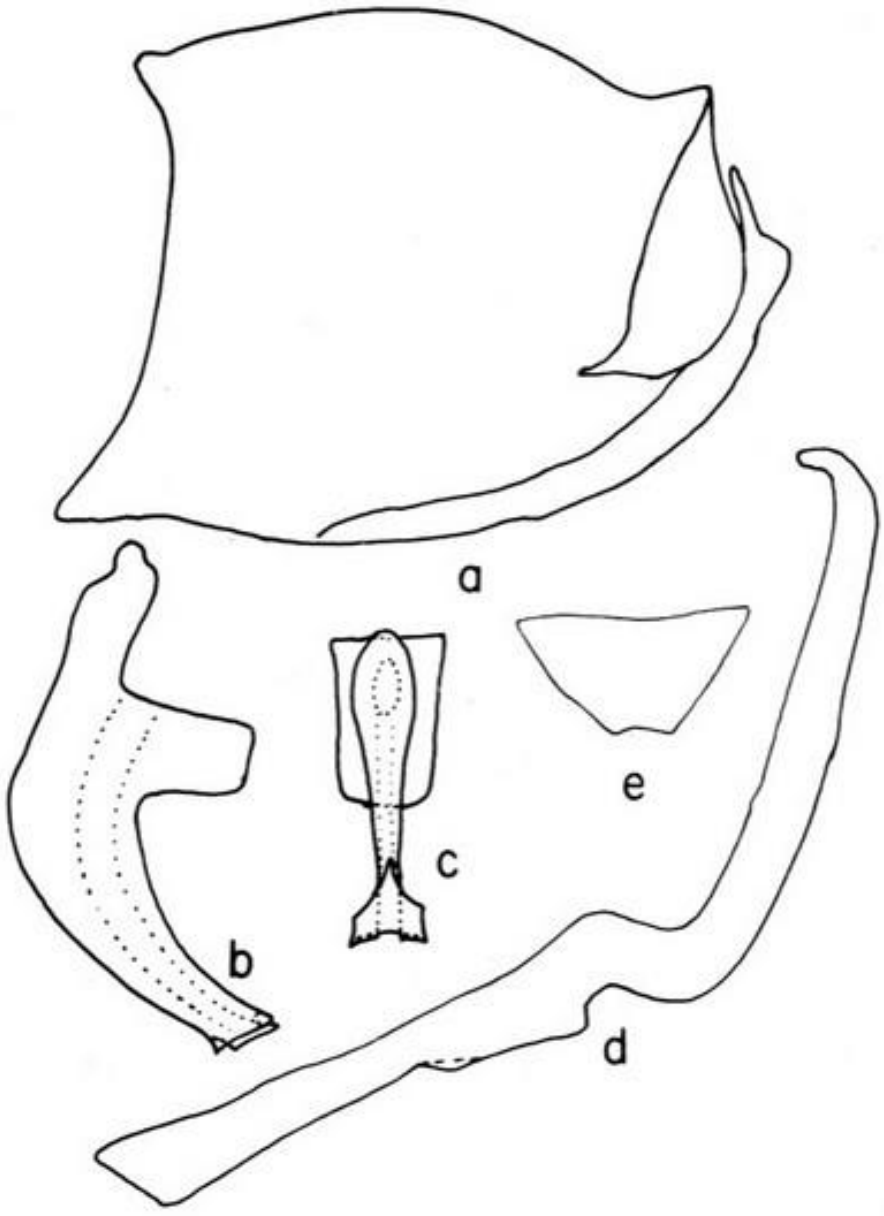


FIGURE 16.—*Macropsis trimaculata* (Fitch): *A*, Male pygofer, lateral aspect; *B*, aedeagus, lateral aspect; *C*, aedeagus, ventral aspect; *D*, right style, dorsal aspect; *E*, female seventh sternum, ventral aspect.

Leafhopper *Macropsis trimaculata*

اقدامات قرنطینه ای:

فیتوپلاسمای زرد هلو یک آفت قرنطینه ای برای ایران و برخی از کشورها و آفت قرنطینه EPPO A1 است (OEPP/EPPO, 1986). در منطقه EPPO، هلو، میزبان اصلی، بیشترین اهمیت اقتصادی را در بین همه گونه های Prunus دارد. احتمالا ارقام اروپایی حساسی وجود دارد و در هر صورت ارقام آمریکایی اغلب معرفی می شوند. اگرچه ناقل آمریکایی در اروپا وجود ندارد، حشرات محلی ممکن است به عنوان ناقل عمل کنند. این واقعیت که این بیماری گهگاهی رهگیری شده است، یادآور خطر واقعی معرفی است. مواد کاشت سالم Prunus باید آشکارا عاری از فیتوپلاسمای زرد هلو باشد. با این حال، این آفت واقعاً یک کنجکاوی تاریخی است تا یک خطر فوری، و در عمل بسیار کمتر از فیتوپلاسمای بیماری ایکس هلو اهمیت دارد (EPPO/CABI، 1997). آن را

EPPO توصیه می‌کند (OEPP/EPPO، 1990) که مواد کاشت آلو باید از مزرعه‌ای باشد که در طول فصل رشد مورد بازرسی قرار می‌گیرد و به‌ویژه برای مواد کشورهای آلوده، این مواد باید مشمول یک طرح گواهی رسمی، با تأکید ویژه بر جلوگیری از عفونت مجدد مواد سالم توسط ناقل‌های هوا باشد. طرح صدور گواهینامه EPPO برای درختان میوه (OEPP/EPPO، 1992/1991)، اگرچه در نظر گرفته شده است که عمدتاً در منطقه EPPO مورد استفاده قرار گیرد، اما یک مدل مناسب ارائه می دهد.

روشهای ردیابی و بازرسی:

این بیماری را می توان بر روی یک شاخص هلو مناسب مانند نهال **GF305** یا **cv** نمایه کرد. البرتا. برای جوانه زدن باید پیوند پیوندک و براده برداری ترجیح داده شود. در گلخانه، علائم در عرض 3 ماه پس از تلقیح ظاهر می شود، در حالی که در مزرعه، گیاهان آزمایش تا 4 سال باید مشاهده شوند. یک روش بهداشت گیاهی **EPPO** برای فیتوپلاسم درختان میوه جزئیات را ارائه می دهد (**OEPP/EPPO**، 1994).

یک روش سریع برای تشخیص عفونت های فیتوپلاسما، تست فلورسانس **DAPI (diamidino-2-phenylindole)** است. در این روش، مقاطع میکروتوم با **DAPI** رنگ آمیزی می شوند و توسط میکروسکوپ اپی فلورسانس بررسی می شوند (**Seemüller, 1976**).

حساس تر از تست های بیولوژیکی و میکروسکوپ فلورسانس **DAPI PCR** است. **DNA** الگو از دمبرگ ها، میانی ها یا بافت دمگل میوه بر اساس آرنس و سیمولر (1992) استخراج می شود. تراشیدن آبکش، که توسط **Ahrens** و **Seemüller** (1994) توصیف شده است، اغلب منبع بهتری برای **DNA** نمونه نسبت به **DNA** برگ یا ریشه است. **PCR** با استفاده از جفت پرایمر مخصوص گروه **Xdisease P1/WXint** انجام می شود (**Smart et al., 1996**). برای سنجش **PCR** تو در تو، پرایمرهای جهانی فیتوپلاسما **R16F2/R2** برای تکثیر اولیه و پرایمرهای اختصاصی گروه بیماری **X R16(III)F2/R2** برای واکنش های تکثیر مجدد استفاده می شود (**Lee et al., 1994**). پرایمرهای مخصوص زردهای هلو در دسترس نیستند و روش‌هایی برای تشخیص عامل زرد هلو از سایر اعضای گروه بیماری **X** با تجزیه و تحلیل **rDNA RFLP** محصولات تقویتی آزمایش نشده است.

علائم زردی هلو عبارتند از:

- کلروز برگ
- برگ های نورد رو به بالا
- در عفونت شدید ساقه ها باریک با برگ های کوچک، باریک و زرد هستند
- میوه های کوچک که ممکن است تغییر شکل دهند
- میوه زود می رسد
- میوه های قرمز رنگ زیادی پیدا می کنند
- درختان کاهش یافته و ممکن است در عرض 23 سال پس از آلودگی بمیرند

سنجش سرولوژی:

فیتوپلاسماها آبکش محدود هستند و بافت عروقی باید برای تشخیص موفقیت آمیز PCR استفاده شود. دمبرگ های برگ، رگبرگ میانی از برگ های علامت دار و خراشیدن پوست شاخه ها و شاخه ها را می توان از میزبان های گیاهی در حال رشد استفاده کرد. می توان از دمگل های میوه گیلاس استفاده کرد و در بادام از قسمت نوک تیز پایین پوسته در حالی که هنوز نرم است می توان استفاده کرد (Lauri Guerra Pers. Comm.). اگر گیاه خواب باشد، می توان از جوانه ها و خراشیدن پوست شاخه ها، تنه و ریشه ها استفاده کرد، اگرچه اینها احتمالاً کمتر قابل اعتماد هستند. در صورت استفاده از تراشیدن پوست از مواد چوبی، لایه مرده پوست بیرونی را جدا کنید تا بافت عروق داخلی سبز رنگ نمایان شود.

بیماری بدون علامت ممکن است رخ دهند و در صورت مشکوک بودن به این امر، نمونه برداری کامل از بافت آبکش مختلف از شاخه ها و شاخه های مختلف یک گیاه برای جداسازی فیتوپلاسما مهم است.

روش تشخیص فیتوپلاسما توصیه شده

• استخراج DNA کل با استفاده از روش توصیف شده توسط گرین و همکاران. (1999) که از a بافر استخراج CTAB و DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen Cat. No. 69104).

• PCR کنترل داخلی را با پرایمرهای rP1/fD2 انجام دهید. پرایمرهای rP1/fD2 ژن S rRNA16 را از بیشتر پروکاریوت‌ها و همچنین کلروپلاست‌ها تقویت می‌کنند. اگر این آزمایش منفی باشد، DNA وجود ندارد یا بازدارنده‌های DNA پلیمراز همراه با اسید نوکلئیک استخراج شده‌اند. در این شرایط، سعی کنید اسید نوکلئیک را تمیز کنید (پیوست 1) یا استخراج را با روش دیگری تکرار کنید (پیوست 2).

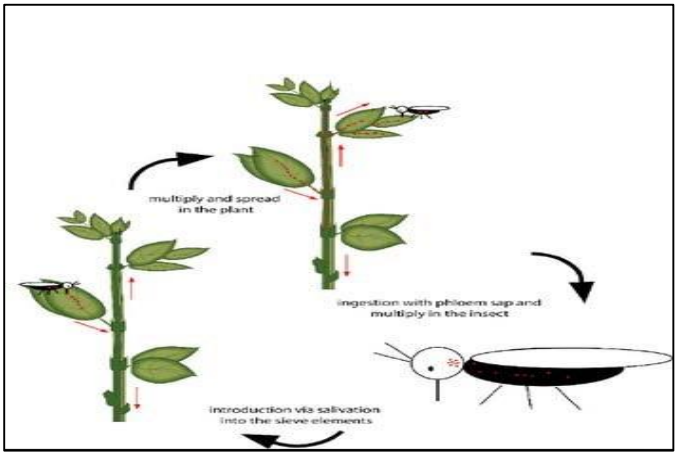
PCR را با استفاده از روش زیر انجام دهید:

• از یک PCR تودرتو بر روی DNA خالص شده با استفاده از جفت پرایمر جهانی فیتوپلاسما، P1/P7 برای PCR مرحله اول و سپس جفت پرایمر R16F2n/R16R2 برای مرحله دوم PCR استفاده کنید (جدول 4).

• محصولات PCR را با الکتروفورز ژل آگارز آنالیز کنید.

برای تعیین هویت فیتوپلاسما، محصول PCR تودرتو را توالی مستقیم کنید. اگر توالی یابی مستقیم مشکل ساز باشد، محصول PCR را می توان کلون کرد و سپس با استفاده از روش های شبیه سازی و توالی یابی استاندارد، توالی یابی کرد. داده‌های توالی را می‌توان با استفاده از ابزار اصلی جستجوی هم‌ترازی محلی (BLAST) موجود در:

http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi. اگر امکانات توالی یابی در دسترس نباشد، می توان از یک PCR تودرتو با استفاده از محصول PCR برای محصول PCR مرحله اول (P1/P7) و پرایمرهای اختصاصی گروه SrIII16 (جدول 4) برای شناسایی فیتوپلاسما در سطح گروه استفاده کرد، اما این مشخص نمی کند که کدام گونه فیتوپلاسمای SrIII16 وجود دارد.

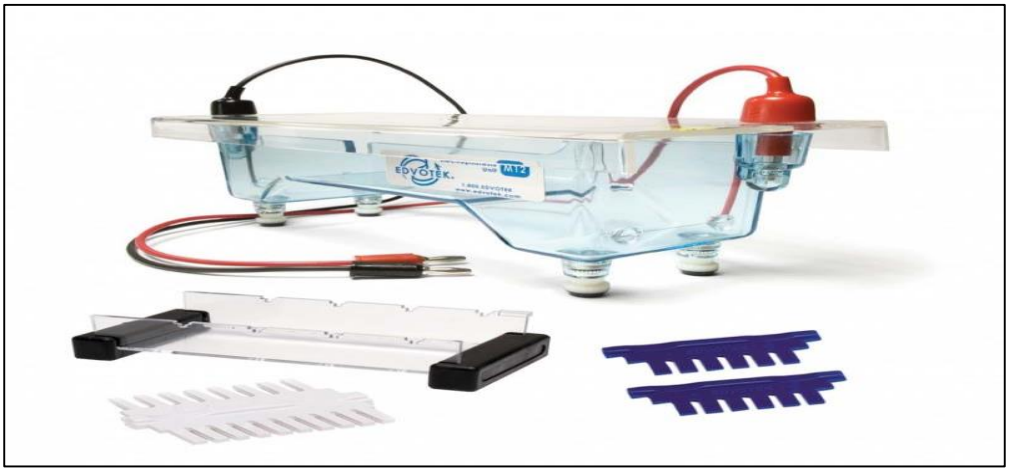


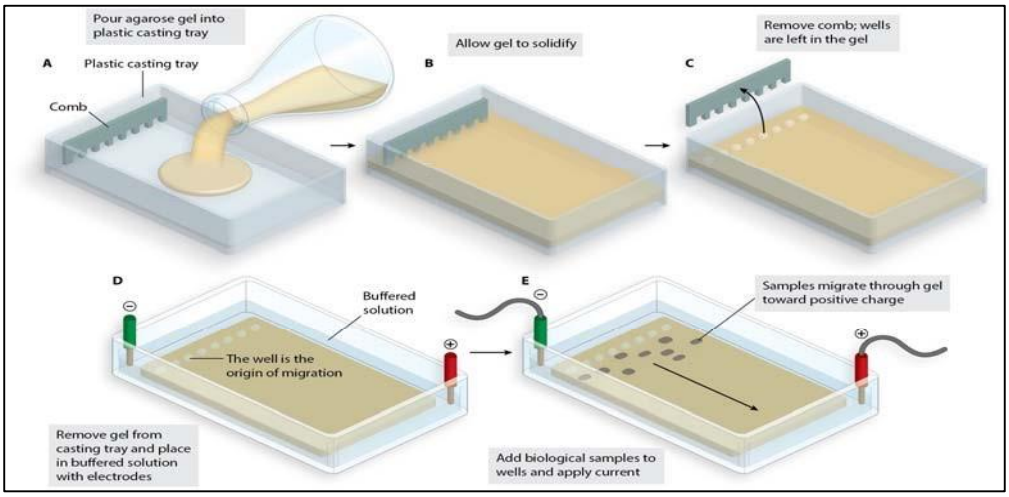
Excision of leaf tissue from orchard or homeowner samples to be processed

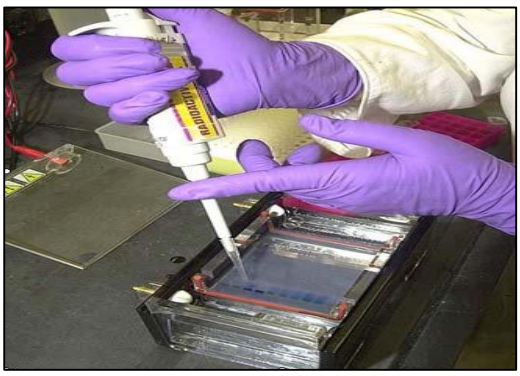
Grinding leaf samples with a tissue homogenizer

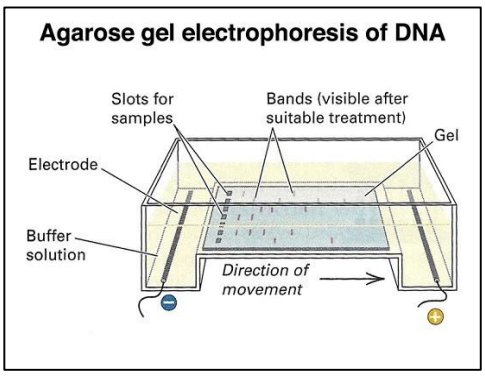
Grinding buffer is added to samples.

Detection and inspection Phytoplasma by PCR









Detection and inspection Phytoplasma by PCR

منابع:

CAB International. 2025. Crop Protection Compendium. 2025 Edition. CAB International. Wallingford, Oxon, UK.
https://gd.eppo.int/taxon/PHYP29/distribution
Hasanzadeh ,Nader, 1995, principles and methods of plant bacteriology, scientific publication center of Islamic azad university,P 641.
http://www.virginiafruit.ento.vt.edu/peachyellows.html
https://images.search.yahoo.com/search/images;_ylt=A0LEVxRhlLNTahAAF71XNyoA?p=plum+leafhopper&fr=yfp-t-901&fr2=piv-web
https://www.google.com/search?tbm=isch&hl=fa&source=hp&gbv=2&q=peach%20yellow
http://www.cabi.org/isc/datasheet/39168
http://www.plantwise.org/KnowledgeBank/Datasheet.aspx?dsid=39168
https://www.eppo.int/QUARANTINE/data_sheets/bacteria/PHYP29_ds.pdf
https://www.forestryimages.org/browse/detail.cfm?imgnum=5335074
http://plantbiosecuritydiagnostics.net.au/wordpress/wp-content/uploads/2015/03/NDP-17-Xdisease-phytoplasma-V1.2.pdf