



جمهوری اسلامی ایران

وزارت جهاد کشاورزی

سازمان حفظ نباتات کشور



**بیماری فیتوپلاسمایی پیچیدگی زرد برگ هلو**  
**Peach X-disease phytoplasma**  
**Acholeplasmatales:Acholeplasmataceae**

تهیه و تنظیم:

احمد چراغیان

دفتر پایش و تحلیل خطر

1404

# بیماری فیتوپلاسمائی پیچیدگی زرد برگ هلو

## Peach X-disease phytoplasma

Domain: Bacteria

Phylum: Firmicutes

Class: Mollicutes

Order: Acholeplasmatales Family:

Acholeplasmataceae

### Common name:

peach yellow leaf roll ,Peach X-disease, cherry buckskin, leaf casting, cherry albino.

### اهمیت اقتصادی:

بر خلاف روزت هلو و زرد هلو EPPO/CABI 1997, a, b, بیماری X یا همان بیماری فیتوپلاسمائی پیچیدگی زرد برگ هلو در آمریکای شمالی از اهمیت اقتصادی کنونی برخوردار است (Kirkpatrick et al., 1995)، به ویژه در کالیفرنیا، جایی که باعث ایجاد مشکلات جدی در باغات گیلاس به عنوان بخشی از مجموعه رول برگ زرد هلو، و در میشیگان می شود. همچنین به طور گسترده در بسیاری از ایالت های دیگر در ایالات متحده توزیع شده است.

### میزبانها:

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

#### Major hosts:

*Dodonaea viscosa* (switch sorrel), *Prunus avium* (sweet cherry), *Prunus cerasus* (sour cherry), *Prunus persica* (peach), *Prunus salicina* (Japanese plum).

#### Minor hosts:

*Prunus armeniaca* (apricot), *Prunus domestica* (plum), *Prunus dulcis* (almond)

### پراکنش جغرافیائی:

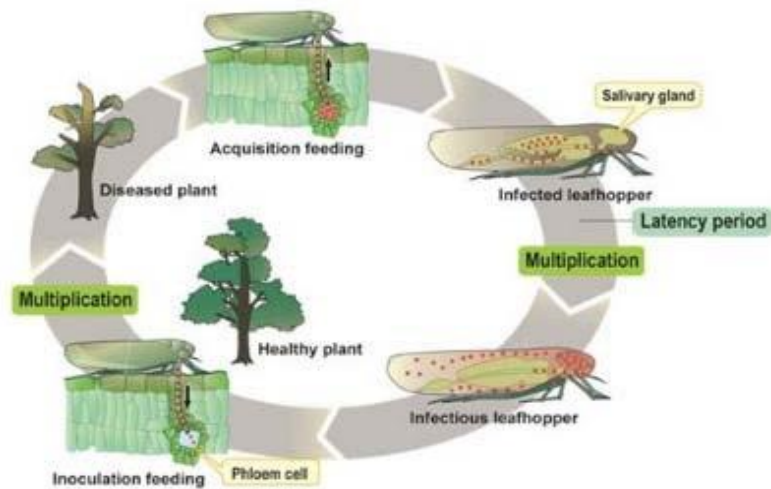
آسیا: هند آمریکای شمالی : آمریکا



نقشه پراکنش بیماری فیتوپلاسمائی پیچیدگی زرد برگ هلو

## زیست شناسی:

این بیماری به راحتی از طریق جوانه زدن یا پیوند منتقل می شود، اما خود فیتوپلازما می تواند به طور بسیار نامنظم در گیاه توزیع شود (با توجه به سویه). پتانسیل بیماری جوانه ها در تابستان بیشتر است (روزنبرگر و جونز، 1977). همچنین انتقال به گیاهان علفی مختلف توسط دودر (گونه *Cuscuta*) امکان پذیر است. مهم ترین شکل عملی انتقال توسط ناقل های leafhopper، به ویژه *Paraphlepsius irroratus* در شرق ایالات متحده، و *Scaphytopius acutus* و *Colladonus montanus* و تا حدی *Fieberiella florii* و *Graphocephala confluens* است. فیتوپلازما با استفاده از پروب های DNA در *P. irroratus* در میشیگان (Rahardja et al., 1992) و در *C. montanus* و *F. florii* در کالیفرنیا شناسایی شده است (Kirkpatrick et al., 1990). انتقال عمدتاً از درختان وحشی *Prunus virginiana* در شرق ایالات متحده و همچنین از هلو آلوده به هلو سالم در غرب ایالات متحده است. رفتار پراکندگی *P. irroratus* در باغ های هلو و گیلاس مورد مطالعه قرار گرفته است (لارسن و والون، 1988) و پیامدهای آن برای جنبش Xdisease در نظر گرفته شده است. اخیراً علف های هرز علفی نیز به عنوان مخزن در باغات عمل می کنند. ناقلان بر روی این علف های هرز زمستان گذرانی کرده و در تابستان به سمت درختان حرکت می کنند. دوره کمون در هلو یا *P. virginiana* بستگی زیادی به مرحله رشد درخت در لحظه آلودگی دارد. اگر جوانه ها در سال قبل تلقیح شوند، علائم 6 هفته پس از شروع رشد مشاهده می شود (روزنبرگر و جونز، 1977). دوره نهفتگی در ناقل حشره طولانی است: 22-35 روز برای *C. geminatus* و 45 روز برای *S. acutus* (Kirkpatrick et al., 1995).



Oshima et al. 2011

### Phytoplasma Life Cycle

## علائم خسارت:

اولین علائم بیماری هلو، لکه های زرد و پیچش برگ ها است. مدت کوتاهی پس از آن، کل تاج درخت کلروتیک می شود و برگ های آن می ریزند و چند گل سرخ در نوک شاخه ها باقی می ماند. درختان جوان 1-3 سال پس از ظهور اولین علامت می میرند. درختان مسن که به طور مزمزمن آلوده شده اند ممکن است چندین سال زنده بمانند اما میوه کم یا بدون میوه می دهند. درختان گیلاس آلوده روی پایه های *Prunus mahaleb* به دلیل مقاوم بودن پایه به سرعت می میرند و واکنش حساسیت بیش از حد در پیوند پیوند رخ می دهد. در سایر پایه ها، کاهش کندتر است (Uyemoto, 1989; Kirkpatrick et al., 1995). برگها کوچکتر و قرمز رنگ هستند، گاهی اوقات با دانه های بزرگ. میوه ها دیر بالغ می شوند، دارای ساقه های کوتاه و گوشت آبکی معطر هستند. علائم مشابهی در chokecherry شرح داده شده است.

گیاهان (*Dodonea viscosa* (Borth et al., 1995) که در آنها فیتوپلاسمها شناسایی شده بودند دارای لکه های زرد روی برگ ها همراه با تکثیر جارو جادوگران و رشد کوتاه مدت بودند، البته اغلب فقط در بخشی از گیاه. در بسیاری از موارد گیاه نسبتاً سریع می میرد. در گونه های *Prunus* متحمل، بیماری می تواند نهفته باشد.

علائم اولیه شامل لکه بینی و پیچش برگها است. رگبرگهای برگ نیز ممکن است متورم شوند. اندکی بعد، کل تاج درخت کلروتیک می شود و برگ های آن می ریزند و در نوک شاخه ها چند گل سرخ باقی می ماند. درختان جوان 1-3 سال پس از ظهور اولین علامت می میرند. درختان مسن که به طور مزمزمن آلوده شده اند ممکن است چندین سال زنده بمانند اما میوه کم یا بدون میوه می دهند. درختان گیلاس آلوده روی پایه های *Prunus mahaleb* به دلیل مقاوم بودن پایه به سرعت می میرند و واکنش حساسیت بیش از حد در پیوند پیوند رخ می دهد.

علائم در میوه شامل میوه های کوچک، نوک تیز یا تغییر شکل با رنگ قرمز کم رنگ تا سفید مایل به سبز است. دمگل ها ممکن است کوتاهتر از حد معمول ظاهر شوند.

- خشکیدگی شاخه ها در اوایل فصل رشد
- برگ های آسیب دیده ممکن است کوچک تر، به سمت داخل خمیده شوند و لکه های زرد تا قرمز متمایل به بنفش ایجاد کنند.
- لکه های برگ خشک و شکننده می شوند و می ریزند و برگ های پاره شده با ظاهری "شات سوراخ" می ریزند (شکل 6).
- برگ های شاخه های آسیب دیده به موقع می ریزند، از پایه شاخه شروع می شود و اغلب دسته ای از برگها را در نوک شاخه ها باقی می گذارند.

• عملکرد و کیفیت میوه تحت تأثیر قرار می گیرد

• میوه ممکن است زودتر از موعد ریزش کند

• میوه می تواند رنگ و زود برسد و طعم تلخی داشته باشد

• در مراحل اولیه توسعه بیماری، تنها چند شاخه تحت تأثیر قرار می گیرند

• بعد از 2-3 سال تمام تاج درخت هلو مبتلا به بیماری X علائم را نشان می دهد

• درختان هلو به تدریج کاهش می یابند و درختان ممکن است در عرض 6-2 سال بمیرند.

## علائم در قسمت آسیب دیده گیاه:

میوه ها/غلاف ها: شکل غیر طبیعی. افت زودرس

گل آذین: پاییز یا ریزش.

برگ: ضایعات؛ اشکال غیر طبیعی؛ ریزش غیر طبیعی برگ؛ زرد شده یا مرده

ساقه: رشد غیر طبیعی.

گیاه کامل: گیاه مرده؛ از بین رفتن؛ پیری زودرس؛ تحریف؛ روزت کردن



**Symptoms of peach X-disease: Peach tree during tetracycline treatment for Peach X Disease. The arrow indicates injection point&**



**Dieback and partial yellowing of a peach tree affected by peach X disease phytoplasma**



**Dieback and partial yellowing of a peach tree**



**Symptoms of peach X-disease: Peach tree in Connecticut, USA, severely affected by Peach X-Disease**



**Figure 5. Cherry (cv Bing) fruit unaffected (left) or associated with Napa Valley strain (middle) and the Green Valley strain (right) of X-disease phytoplasma (© F. Constable).**



**Symptoms on cherry. Small fruit with shorten peduncles, small leaves and dieback of the tree**



**Symptoms on cherry. Heterogenous maturity and dieback of the tree**



**Slight discoloration and mottling of infected leaves. Infected trees will appear to have discolored foliage when compared to healthy trees & Symptoms on peach obtained by artificial transmission. Note the rolled leaves, swollen veins and yellowing.**



**Discoloration of infected leaves. Infected trees will appear to have discolored foliage when compared to healthy trees**



Leaves along infected branches will all begin to turn red before the abscise



**Figure 2.** A hypersensitive reaction to X-disease at the graft union of sweet cherry on the *Prunus mahaleb* rootstock (Image courtesy of A. H. Purcell University of California).



H.J. Larsen, Bugwood.org

Graft union showing symptoms of X disease



**Figure 6.** An unaffected peach leaf (middle) compared to X-disease affected peach leaves with shothole symptoms (left and right). (Image courtesy of B. Howell Washington State University).



A. H. Purcell, University of California

X disease can affect entire orchards



J.K. Lyemoto, USDA

Diseased fruit (right) are paler than normal fruit (left)



F. Doriba, INRA, Bordeaux, Bugwood.org

Affected fruit are smaller and peduncles are shorter

## راههای انتقال و انتشار:

ظرفیت ناقل ها برای پراکندگی فیتوپلازما فقط محلی است. این پاتوژن به احتمال زیاد در سطح بین المللی در مواد کاشت آلوده یا احتمالاً در ناقلان حمل شده روی گیاهان پخش می شود.

پراکندگی طبیعی (غیر زیستی):

پاتوژن را می توان از طریق مواد تکثیر آلوده به صورت قلمه یا ریز برش حاصل از تکثیر مواد آلوده به مسافت طولانی منتقل کرد.

### انتقال با ناقلین:

انتقال ناقل توسط زنجره ها ، به ویژه *Paraphlepsius irroratus* در شرق ایالات متحده، و *Scaphytopius acutus* *Colladonus montanus* و تاحدی *Colladonus geminatus*، *Fieberiella florii*، *Graphocephala confluens* است. انتقال عمدتاً از درختان وحشی *Prunus virginiana* و همچنین از هلوهای آلوده به هلوهای سالم در غرب ایالات متحده است. علف های هرز علفی نیز به عنوان مخزن در باغ ها عمل می کنند. ناقلان بر روی این علف های هرز زمستان گذرانی کرده و در تابستان به سمت درختان حرکت می کنند.

این بیماری به راحتی از طریق جوانه زدن یا پیوند منتقل می شود، اما خود فیتوپلازما می تواند به طور بسیار نامنظم در گیاه توزیع شود (با توجه به سویه). انتقال به گیاهان علفی مختلف نیز امکان پذیر است که به عنوان مخزن در باغات عمل می کنند. مهمترین شکل عملی انتقال توسط زنجرها است.



Figure 9. X-disease phytoplasma infect almond tree cv. Padre (front) compared to an uninfected tree (back) and PD/PYLRV2 (pear decline phytoplasma, 16S group X) infected tree (right) (© F. Constable).



## اقدامات قرنطینه ای:

فیتوپلازما بیماری ایکس هلو یک آفت قرنطینه (OEPP/EPPO A1) 1986 است، اما توسط هیچ سازمان منطقه ای حفاظت از گیاهان منطقه ای به عنوان آفت قرنطینه ای مشخص نشده است. در منطقه EPPO، هلو، میزبان اصلی، بیشترین اهمیت اقتصادی را در بین همه گونه های *Prunus* دارد. احتمالاً ارقام اروپایی حساسی وجود دارد و در هر صورت ارقام آمریکایی اغلب معرفی می شوند. از بین ناقلان آمریکای شمالی، حداقل *Fiebertella florii* در اروپا وجود دارد و همچنین ممکن است حشرات محلی نیز وجود داشته باشند که ممکن است به عنوان ناقل عمل کنند. تولید مواد کاشت سالم *Prunus* مستلزم حذف فیتوپلازمای بیماری X هلو است که در صورت عدم اعمال صحیح اقدامات کنترلی به طور جدی مضر است. این واقعیت که ارقام جدید هلو آمریکایی به طور منظم به اروپا وارد می شوند، به شدت به خطر واقعی موجود اشاره می کند. تجربه با ویروئید موزاییک نهفته هلو (EPPO/CABI، 1997a)، که در چنین شرایطی به اروپا معرفی شد، نباید فراموش شود. این یک آفت قرنطینه ای برای ایران و برخی کشورهای دیگر است

EPPO پیشنهاد می کند که کشورها ممکن است واردات مواد کاشت آلو از کشورهای آلوده را ممنوع کنند. روش دیگر، EPPO توصیه می کند (OEPP/EPPO، 1990) که مواد کاشت *Prunus* باید از مزرعه ای باشد که در طول فصل رشد مورد بازرسی قرار گرفته است و به ویژه برای مواد کشورهای آلوده، مواد باید مشمول یک طرح گواهی رسمی، با تاکید ویژه بر جلوگیری از بیماری مجدد مواد سالم توسط ناقلین هوا باشد. طرح صدور گواهینامه EPPO برای درختان میوه (OEPP/EPPO، 1991/1992)، اگرچه در نظر گرفته شده است که عمدتاً در منطقه EPPO مورد استفاده قرار گیرد، اما یک مدل مناسب ارائه می دهد.

مواد کاشت و نهاده های باغ را فقط از تامین کنندگان معتبر و "پاک" تهیه کنید. باغ خود را مرتباً از نظر وجود آفات جدید و علائم غیرعادی بررسی کنید. مطمئن شوید که با آفات رایج گیلاس آشنا هستید تا بتوانید متوجه شوید که آیا چیز متفاوتی می بینید



Early symptoms include leaf yellowing and rolling and swollen veins



Canopy chlorosis of an entire sour cherry tree due to X disease

## روشهای ردیابی و بازرسی:

فیتوپلاسمای بیماری **X** هلو را می توان بر روی نهال های هلو (ج. **Elberta** یا **GF305**) در مزرعه آزمایش کرد، اما برای قطعی شدن نتایج به 4 سال زمان نیاز است. همچنین می توان آن را روی همان شاخص ها در گلخانه آزمایش کرد، علائم تا 3 ماه پس از تلقیح ظاهر می شود.

روش های سرولوژیکی (**ELISA**، میکروسکوپ الکترونی ایمونوسورینت) برای تشخیص پاتوژن در آماده سازی های نیمه خالص شده از کرفس، یک میزبان علفی مصنوعی (**Chiukowski, 1984 & Sinha**) و در ناقل های **leafhopper** با موفقیت آزمایش شده اند (**Chiukowski; 619, 1988 & Sinha**). آنتی بادی های مونوکلونال مخصوص فیتوپلاسمای بیماری **X** هلو به دست آمده است (جیانگ و همکاران، 1989). فیتوپلاسمای بیماری **X** هلو اکنون به یکی از ارگانسیم های نوع برای مطالعات مولکولی در طبقه بندی فیتوپلاسم تبدیل شده است (به یادداشت هایی در مورد طبقه بندی و نام گذاری مراجعه کنید). بنابراین، انواع تکنیک های سرولوژیکی یا مبتنی بر اسید نوکلئیک وجود دارد که می تواند آفت را از ارگانسیم های مرتبط متمایز کند. برخی از این کاوشگرهای **DNA** خاص، به احتمال زیاد می توانند برای تشخیص و شناسایی عملی بیماری **X** در **Prunus** استفاده شوند، اما به نظر می رسد جزئیات خاصی در مورد استفاده عملی منتشر نشده است. میکروسکوپ فلورسانس ساده با معرف **DAPI** می تواند برای تشخیص پت هوژن در میان رگبرگ ها و دمبرگ های هلو و **P. virginiana** استفاده شود (داگلاس، 1986). یک روش بهداشت گیاهی **EPPO** برای فیتوپلاسم درختان میوه جزئیات را ارائه می دهد (**OEPP/EPPO**، 1994).

قلمه یا پیوندک را می توان با پیوند زدن به نهال های هلو (ج. **Elberta** یا **GF305**) در مزرعه برای بیماری توسط فیتوپلاسمای بیماری **X** هلو شاخص کرد، اما برای قطعی شدن نتایج به 4 سال زمان نیاز است. همچنین می توان آن را روی همان شاخص ها در گلخانه آزمایش کرد، علائم تا 3 ماه پس از تلقیح ظاهر می شود.



Figure 1. An unaffected cherry tree cv. Bing (Left) compared to an X-disease affected cherry tree cv. Bing infected with the Napa valley X-disease phytoplasma strain (right) (© F. Constable).

## سنجش سرولوژی:

فیتوپلازماها 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 بیرونی مرده پوست 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 فیتوپلازما مهم است.

### روش تشخیص فیتوپلازما توصیه شده

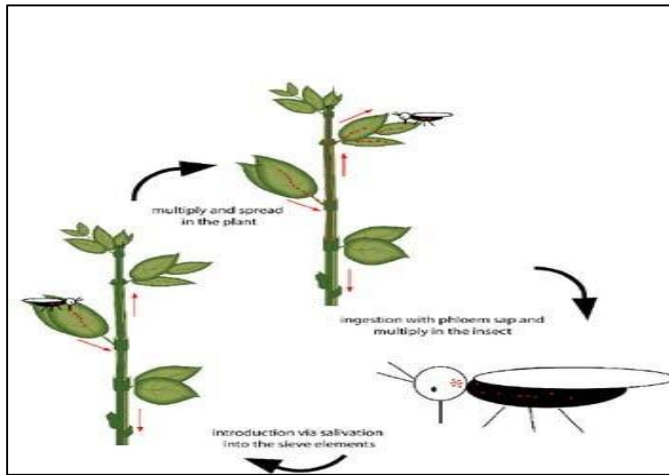
- استخراج DNA کل با استفاده از روش توصیف شده توسط گرین و همکاران. (1999) که از a بافر استخراج CTAB و DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen Cat. No. 69104) استفاده می کند.
- PCR کنترل داخلی را با پرایمرهای rP1/fD2 انجام دهید. پرایمرهای rP1/fD2 ژن S rRNA16 را از بیشتر پروکاریوت ها و همچنین کلروپلاست ها تقویت می کنند. اگر این آزمایش منفی باشد، DNA وجود ندارد یا بازدارنده های DNA پلیمرز همراه با اسید نوکلئیک استخراج شده اند. 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 فیتوپلازما، 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 فیتوپلازما، 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. داده های توالی را می توان با استفاده از ابزار اصلی جستجوی هم تراز می 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 فیتوپلازما در سطح گروه استفاده کرد، اما این مشخص نمی کند که کدام گونه فیتوپلازما SrIII16 وجود دارد.



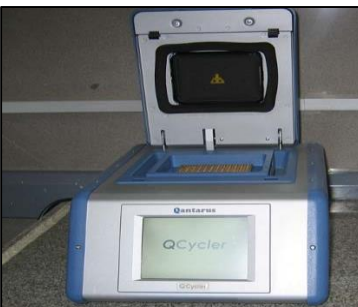
Excision of leaf tissue from orchard or homeowner samples to be processed



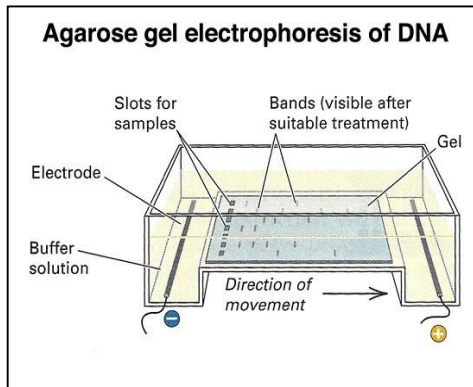
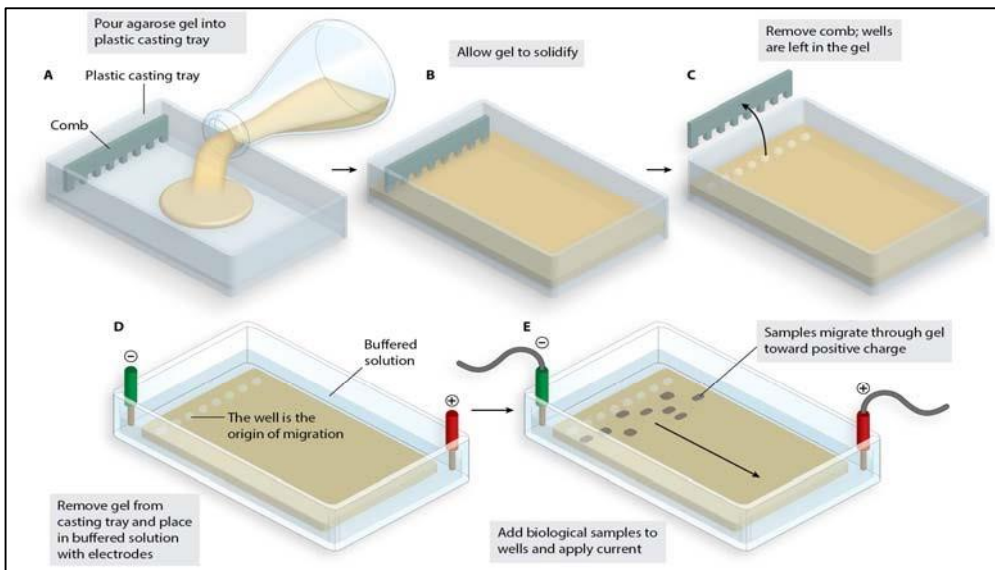
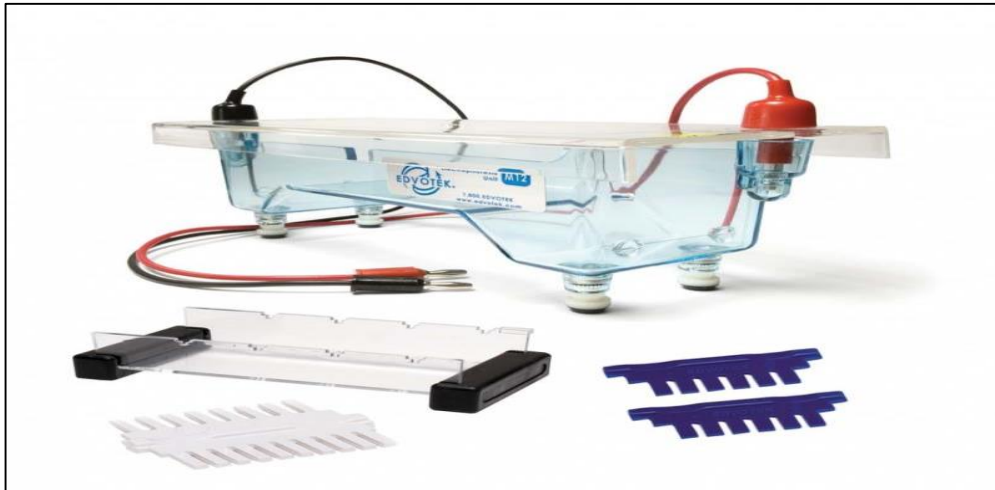
Grinding leaf samples with a tissue homogenizer



Grinding buffer is added to samples.



### Detection and inspection Phytoplasma by PCR



**Detection and inspection Phytoplasma by PCR**

CAB International. 2025. Crop Protection Compendium. 2025 Edition. CAB International.

<https://www.cabdigitalibrary.org/doi/10.1079/DMPD/20066500757>

Wallingford, Oxon, UK.

Hasanzadeh ,Nader, 1995, principles and methods of plant bacteriology, scientific publication center of Islamic azad university,P 641.

[http://www.oregon.gov/ODA/CID/PLANT\\_HEALTH/pages/peach\\_xdisease\\_phytoplasma.aspx](http://www.oregon.gov/ODA/CID/PLANT_HEALTH/pages/peach_xdisease_phytoplasma.aspx)

<http://www.invasive.org/browse/detail.cfm?imgnum=0725027>

[http://www.eppo.int/QUARANTINE/bacteria/Peach\\_X\\_disease/PHYP17\\_images.htm](http://www.eppo.int/QUARANTINE/bacteria/Peach_X_disease/PHYP17_images.htm) 7.

<http://www.fruit.cornell.edu/tfabp/tfacts/peachx.pdf>

[https://www.eppo.int/QUARANTINE/data\\_sheets/bacteria/PHYP17\\_ds.pdf](https://www.eppo.int/QUARANTINE/data_sheets/bacteria/PHYP17_ds.pdf)

[https://www.aphis.usda.gov/import\\_export/plants/manuals/emergency/downloads/nprgphytoplasma.pdf](https://www.aphis.usda.gov/import_export/plants/manuals/emergency/downloads/nprgphytoplasma.pdf)

<http://www.planthealthaustralia.com.au/wp-content/uploads/2013/03/Peach-X-diseaseFS.pdf>

<http://plantbiosecuritydiagnostics.net.au/wordpress/wp-content/uploads/2015/03/NDP-17X-disease-phytoplasma-V1.2.pdf>