جمهوری اسلامی ایران

وزارت جهاد کشاورزی

سازمان حفظ نباتات کشور

راهنمای شناسائی و ردیابی

آفت قرنطینه خارجی

ویروس قهوه ای شدن زود هنگام نخود

Pea early-browning virus

Pea early-browning virus

تهیه و تنظیم:

احمد چراغیان

دفتر پایش و تحلیل خطر

1404

ویروس قهوه ای شدن زود هنگام نخود

Pea early-browning virus
Taxonomic position
Virus Group: Virus
Family: Unassigned virus family
Genus: Tobravirus
Synonyms:

نام های مترادف :

broad bean yellow band virus
pea early browning tobraviru

اهمیت اقتصادی:

رشد ضعیف، مرگ گیاهان در مناطق آلوده به PEBV محصولات نخود فرنگی باعث کاهش عملکرد می شود. اهمیت PEBV در محصولات تجاری نخود در هلند به حدی است که یک طرح صدور گواهینامه در سال 1959 معرفی شد و هنوز هم ادامه دارد (به کنترل مراجعه کنید). Bos و van der Want (1962) توصیه کردند که محصولات حساس نباید در زمین هایی که PEBV وجود دارد، کشت شوند. بسیاری از کشاورزان در انگلستان، از کشت نخود فرنگی در زمین های آلوده اجتناب می کنند، اما کاشت محصولات بسیار زودرس در زمین های سبک اغلب به منظور برآورده کردن الزامات پردازنده های تجاری برای تداوم برداشت ضروری است. علائم شدید BBYBV در ایتالیا (روسو و همکاران، 1984) به این معنی است که ممکن است از دست دادن عملکرد رخ داده باشد (Jellis et al., 1998).

Fiederow (1983) دریافت که تلقیح مکانیکی با PEBV به تنهایی عملکرد دانه باقلا را به طور متوسط 27٪ کاهش می دهد. Broad bean true mosaic comovirus (BBTMV) به تنهایی باعث کاهش 44 درصدی عملکرد شد، اما گیاهان آلوده به PEBV و BBTMV 77 درصد کاهش عملکرد را متحمل شدند.

این بیماری تاکنون از ایران گزارش نشده است و با توجه به اهمیت خسارتزائی آن در فهرست عوامل قرنطینه خارجی ایران و بسیاری از کشورها قرار دارد.

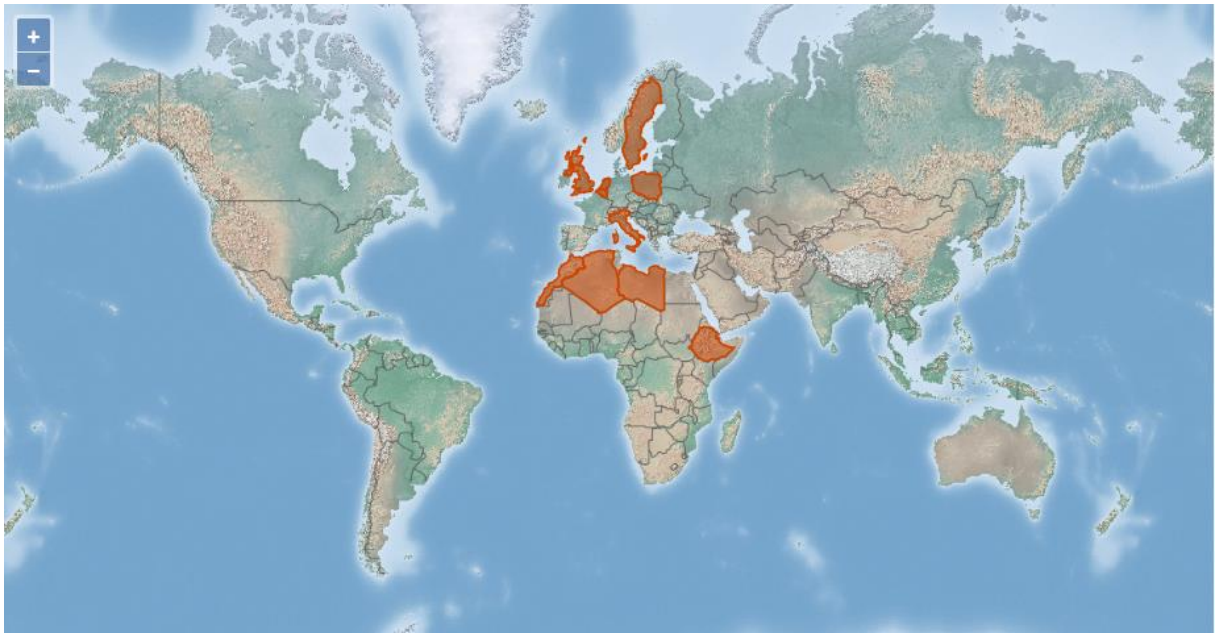
میزبان‌ها:

Major hosts (میزبان های اصلی):
Lupinus luteus (yellow lupin), *Medicago sativa* (lucerne), *Phaseolus vulgaris* (common bean), *Pisum sativum* (pea), *Vicia faba* (broad bean)

پراکنش جغرافیائی:

اروپا: بلژیک، ایتالیا، هلند ،لهستان، انگلستان ،سوئد

آفریقا:الجزایر، اتیوپی،لیبی،مراکش



نقشه پراکنش جغرافیائی ویروس قهوه ای شدن زود هنگام نخود

شکل شناسی:

ذرات PEBV میله های کوتاه و سفت و سختی به عرض حدوداً 20 نانومتر هستند (گیبز و هریسون، 1964) و دارای یک توزیع طول دووجهی مشخصه توبراویروس ها هستند و ذرات کوتاه تر (S) تعداد بیشتری دارند. ذرات بلند (L) جدایه های مختلف دارای طول مدال مشابهی هستند که از 190 تا 212 نانومتر متغیر است. تنوع گسترده ای در طول ذرات S گزارش شده است. طول های 54–99 نانومتر در 12 جدایه مختلف از هلند ثبت شد (ون هوف، 1969)، و لاکهارت و فیشر (1976) طول 90 نانومتر را گزارش کردند، اما برخی از جدایه های PEBV دارای ذرات S با طول بین 100–120 نانومتر هستند. روسو و همکاران (1984) طول ذرات S BBYBV را 77 نانومتر ثبت کرد. شباهت در طول ذرات L و تنوع گسترده در طول ذرات S نیز مشخصه گروه توبراویروس است. روسو و همکاران (1984) گزارش کرد که ذرات L BBYBV اغلب تجمعات پاراکریستالی را در سیتوپلاسم سلولی تشکیل می دهند، اما ذرات S به طور تصادفی پراکنده تر بودند.

ژنوم ویروس شامل دو مولکول RNA تک رشته ای با حس مثبت، RNA-1 و RNA-2 است که هر کدام به طور جداگانه محصور شده اند. RNA-1 و RNA-2 به ترتیب با ذرات L و S مرتبط هستند. ویژگی خاص توبراویروس ها این است که RNA-1 می تواند در گیاهان در غیاب RNA-2 تکثیر و پخش شود، که نشان می دهد RNA-1 حامل اطلاعات ژنتیکی برای این فرآیندها است (فروست و همکاران، 1967؛ لیستر، 1968؛ سنگر، 1969). با وجود این، در غیاب RNA-2، ذرات محصور نمی شوند (لیستر، 1967؛ هریسون، 1966، هاتینگا، 1969)، زیرا RNA-2 سیسترون را برای تولید پروتئین پوششی حمل می کند (سنگر، 1968؛ گولدن و همکاران، 1990). ذرات S و RNA-2 به تنهایی عفونی نیستند.

ایزوله های توبراویروس با RNA-1 و RNA-2 موجود و کپسوله شده توسط Cadman و Harrison (1959) ایزوله های نوع M نامیده شدند. آنها به راحتی توسط تلقیح مکانیکی منتقل می شدند و به راحتی تکثیر می شدند. جدایه های غیر محصور شده ناشی از عفونت با RNA-1 به تنهایی، و که به صورت مکانیکی تنها با مشکل منتقل می شدند و به طور

ضعیفی تکثیر می شدند، ایزوله های نوع NM نامیده می شدند. گیبس و هریسون (1964) دریافتند که پس از تلقیح با شیره استخراج شده در بافر فسفات، برخی از جدایه های PEBV به آسانی سایر جدایه ها منتقل نمی شوند و علائم سیستمیک را در *Nicotiana clevelandii* بسیار کندتر ایجاد می کنند. اگرچه شواهدی مبنی بر انتقال نماتد وجود ندارد، احتمالاً به دلیل اینکه آنها فاقد پوشش پروتئینی هستند، ایزوله های نوع NM اغلب می توانند در عفونت های طبیعی رخ دهند و احتمالاً از جداسازی ذرات L و S در طول انتقال ایزوله های نوع M ایجاد می شوند (هاریسون و رابینسون، 1986).

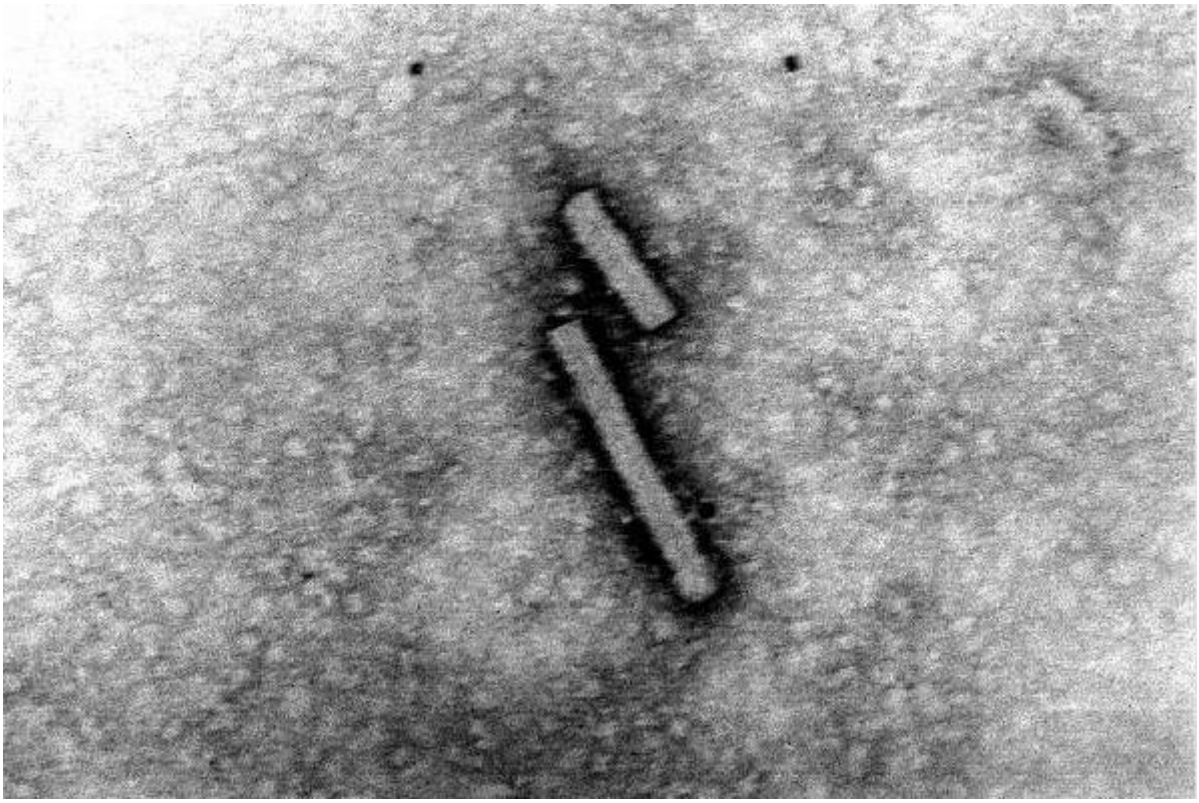
Bos و van der Want (1962) گزارش کردند که شیره نخود فرنگی پس از 6 ماه، اما نه 8 ماه، هنوز مسری است. گیبس و هریسون (1964) دریافتند که شیره برگهای *N. clevelandii* پس از نگهداری به مدت 4 ماه در دمای 20 درجه سانتیگراد بسیار عفونی است و پس از یک سال هنوز مقداری عفونت زایی دارد.

ویروس‌هایی با ژنوم چند بخشی توانایی تشکیل شبه نوترکیب‌های زنده را دارند، که در مورد توبراویروس‌ها ویروس‌های عفونی هستند که دارای RNA-1 از یک ایزوله و RNA-2 از ایزوله دیگر هستند (سالازار و هریسون، 1978؛ کورپا و همکاران، 1981). شبه نوترکیب ها را می توان با تلقیح همزمان روی گیاهان آزمایش عصاره RNA-1 و RNA-2 (رابینسون و هریسون، 1985a) یا ذرات L و S از جدایه های مختلف القا کرد (Harrison and Robinson, 1981). سپس ویژگی‌های شبه نوترکیب‌های القا شده را می‌توان با ویژگی‌های جدایه‌های اصلی آن‌ها مقایسه کرد. آنها دارای آنتی ژنی منبع RNA-2 هستند که پروتئین محصور کننده ذرات را کد می کند، اما علائم تولید شده در گیاهان آزمایش می تواند مشخصه یکی از جدایه های والد باشد، یا ممکن است با علائم تولید شده توسط هر یک از جدایه های والدین به تنهایی متفاوت باشد (رابینسون و هریسون، 1985a)، که نشان می دهد RNA-1 و RNA-1 و RNA-2 می توانند بر بیان symp اثر متقابل داشته باشند. از آنجایی که آنها همیشه بین ذرات L و S یک ویروس و نه بین ذرات ویروس های متفاوت و متمایز تشکیل می شوند، شبه نوترکیب های زنده نشان دهنده تمایل بین جدایه های اصلی است. عصاره های فنلی ایزوله های نوع NM منبع مفیدی از RNA-1 برای تولید شبه نوترکیب ها هستند (هاریسون و رابینسون، 1981).

رابینسون و هریسون (1985b)، با استفاده از هیبریداسیون DNA مکمل، نشان دادند که همسانی توالی نوکلئوتیدی بسیار کمی بین RNA هر یک از توبراویروس ها و RNA هر یک از دو ویروس دیگر وجود دارد، که تأیید می کند که این سه ویروس از یکدیگر متمایز هستند. کار بعدی (رابینسون و همکاران، 1987؛ گولدن و همکاران، 1991) نشان داد که نوترکیب های غیرعادی بین TRV و PEBV رخ می دهد. جدایه های مختلف از یک ویروس خاص همولوژی توالی گسترده ای را در ژنوم RNA-1 به اشتراک می گذارند، اما توالی های RNA-2 آنها می تواند به قدری متنوع باشد که هیچ توالی مشترکی با آزمایش های هیبریداسیون قابل تشخیص نیست (رابینسون و هریسون، 1985b). RNA-2 شامل ژن پروتئین ذره ای است که به خودی خود می تواند بین جدایه های توبراویروس بسیار متغیر باشد (رابینسون و همکاران، 1992).

دو سروتیپ PEBV در ابتدا بر اساس رابطه آنتی ژنی مشخص شدند (گیبز و هریسون، 1964؛ ون هوف، 1969). یکی شامل جدایه های بریتانیایی ویروس بود که از نظر سرولوژیکی فقط با سروتیپ دیگر شامل ایزوله های هلندی، از جمله سویه نوع E116 مرتبط بودند. گیبس و هریسون (1964) دریافتند که جدایه های بریتانیایی از زمینه های مختلف از نظر سرولوژیکی به هم مرتبط هستند و هیچ تفاوت سرولوژیکی بین دوازده جدایه PEBV از هلند یافت نشد (ون هوف، 1969). روسو و همکاران (1984) پیشنهاد کرد که BBYBV را می توان به عنوان یک توبراویروس مجزا در نظر گرفت، زیرا هیچ رابطه سرولوژیکی بین BBYBV و سروتیپ های بریتانیایی یا هلندی PEBV و همچنین بین BBYBV و ایزوله های TRV یافت نشد. همسانی توالی نوکلئوتیدی بین BBYBV و سایر توبراویروس ها و توانایی آن در تشکیل شبه نوترکیب با آنها توسط رابینسون و هریسون (1985a) مورد بررسی قرار گرفت. نتیجه گیری شد که BBYBV باید به عنوان سومین سروتیپ PEBV در نظر گرفته شود. نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل محصولات ترجمه آزمایشگاهی RNA-2

ژنومی PEBV این رابطه را تایید کرده است (هیوز و همکاران، 1986). بنابراین گروه بندی سروتیپ ها می تواند بر اساس تکنیک های مولکولی باشد که با استفاده از سرولوژی تکمیل می شود.



L and S virus particles: L and S particles of a British PEBV isolate.

زیست‌شناسی و اکولوژی

مانند سایر اعضای جنس توبراویروس، PEBV در خاک توسط گونه های نماتد انگلی گیاهی آزاد از خانواده Trichodoridae، به ویژه توسط گونه های Trichodorus و Paratrichodorus منتقل می شود. این نماتدها خاک های شنی یا رسی سبک با زهکش آزاد را ترجیح می دهند که اغلب در مناطق جغرافیایی مشخص یک کشور خاص رخ می دهد. گونه های مختلف نماتد به طور خاص برای انتقال جدایه های PEBV از هلند و انگلستان، UK Harrison، 1966، 1973 نشان داده شد. *Trichodorus primitivus*، *T. viruliferus* و *Paratrichodorus anemones* ناقلین در انگلستان و *P. pachydermus* و *P. teres* در هلند ناقلین هستند. به نظر می رسد هیچ گونه توصیفی از گونه های نماتد که از جاهای دیگر گزارش شده اند و ممکن است جدایه های PEBV را منتقل کنند، وجود ندارد.

ارتباط بسیار خاص جمعیت های ناقل تریکودورید محلی با جدایه های ویروس جغجغه تنباکو (TRV) توسط ون هوف (1968) یافت شد. این ویروس جدا شده از نظر سرولوژیکی مشخص نشد. براون و همکاران (1989) پیشنهاد کرد که اگرچه ممکن است درجه بالایی از ویژگی بین توبراویروس ها و نماتدهای ناقل آنها وجود داشته باشد، ماهیت و اساس آن هنوز به وضوح تعریف نشده است. کار دیگر با TRV (Ploeg و همکاران، 1992) نشان داد که جدایه های سرولوژیکی متمایز می توانند توسط گونه های ناقل مختلف منتقل شوند. ویژگی سرولوژیکی جدایه های توبراویروس توسط RNA-2 کدگذاری می شود.

براون و همکاران (1989) اظهار داشت که شواهد قویاً نشان می‌دهد که قابلیت انتقال ویژه توبراویروس‌ها توسط ناقل‌های نماتد ممکن است حداقل تا حدی به ویژگی‌های پروتئین پوشش بستگی داشته باشد. این امکان وجود داشت که آن ویژگی‌هایی که می‌توانند ویژگی ناقل را تعیین کنند با ویژگی‌هایی که ویژگی آنتی‌ژنی را تعیین می‌کنند متفاوت باشد (براون و همکاران، 1988؛ رابینسون و همکاران، 1992). کار با ایزوله‌های شبه نوترکیب تولید شده از یک جدایه انتقال‌یافته و غیرقابل انتقال TRV به این نتیجه رسید که RNA-2 حامل عامل تعیین‌کننده قابلیت انتقال ناقل TRV است (Ploeg et al., 1993a). در این کار، قابلیت انتقال نیز با خواص سرولوژیکی جدایه‌ها مرتبط است، که نقش پروتئین پوشش ویروسی را نشان می‌دهد، اگرچه ممکن است ژن‌های دیگر روی RNA-2 نیز نقشی داشته باشند. براون و همکاران (1995) و مک فارلین و همکاران. (1996) نشان داد که پروتئین پوششی و احتمالاً هر سه پروتئین دیگر کدگذاری شده با RNA2، در انتقال PEBV توسط نماتدهای ناقل نقش دارند.

نماتدها می توانند ویروس را از ریشه های آلوده سیستمیک، پس از یک ساعت در مورد TRV بدست آورند، اگرچه دوره های تغذیه طولانی تر منجر به جذب کارآمدتر می شود (آیالا و آلن، 1968). ویروس در پوشش کانال غذایی باقی می‌ماند (تیلور و رابرتسون، 1970) و به بافت حمله نمی‌کند و در ناقل تکثیر نمی‌شود و هیچ اثر آشکاری روی نماتد ندارد. نماتدهای تریکودورید با استفاده از روش onchiostyle به سلول های ریزودرمی نوک ریشه گیاه میزبان نفوذ می کنند و اعتقاد بر این است که ذرات ویروس با ترشحات غدد مری نماتد به داخل سلول تزریق می شوند (Martelli and Taylor, 1990).

هریسون و رابینسون (1986) خاطرنشان کردند که نحوه انتقال توبراویروس ها اجازه می دهد تا چندین ذره ویروس به یک سلول منتقل شوند، که برای ویروسی با ژنوم های جداگانه که در ذرات مختلف حمل می شوند مهم است. ویروس همچنین می تواند توسط نماتدها به چندین گیاه منتقل شود (ون هوف، 1964). هریسون (1966) نشان داد که *T. primitivus* بدون ویروس به مدت 4–6 هفته روی گیاهان نخود آلوده به سیستم باقی ماند و یک جدایه بریتانیایی PEBV را به دست آورد و منتقل کرد، اما جدایه ای از هلند نبود. نماتدهای نر و ماده بالغ و نوجوان می توانند ویروس را منتقل کنند (Harrison, 1966) اما ویروس در مرحله پوست اندازی حفظ نمی شود. ناقل های تریکودورید توبراویروس ها ویروس را برای مدت طولانی تری نسبت به ناقل های لانگیدورید نپوویروس ها حفظ می کنند (مارتلی و تیلور، 1990). T.

primitivus که به مدت 32 روز در خاک بدون گیاه نگهداری می شد قادر به انتقال PEBV بود (Harrison, 1966) و ون هوف (1970) اظهار داشت که TRV توسط ناقلان برای ماه ها یا سال ها حفظ می شود. PEBV در خاک در دمای 20 درجه سانتیگراد آسانتر از دماهای بالاتر منتقل می شود (Harrison, 1966). نماتدها در خاک خشک زنده نمی مانند (هاریسون، 1977).

گیبس و هریسون (1964) گزارش کردند که یک مزرعه که در آن آلودگی طبیعی PEBV ثبت شده بود، در 9 سال گذشته به نخود یا لوسرن کاشته نشده بود، و محصولات نخود در هلند اغلب زمانی که در مزارعی که نخود برای 6 تا 8 سال غایب بوده است، به شدت آلوده می شوند (Bos and van der Want). انتشار طبیعی نماتدهای ویروس زا در یک مزرعه با مهاجرت احتمالاً بسیار آهسته است (کوپر و هریسون، 1973)، اگرچه انتشار موضعی احتمالاً می تواند با حرکت باد خاک های شنی نیز رخ دهد. به عنوان مثال، در فواصل طولانی تر، گسترش PEBV توسط نماتدهای حمل شده در خاک روی ریشه گیاهان یا غده های سیب زمینی، بعید است، زیرا تریکودوریدها در برابر آسیب های مکانیکی آسیب پذیر هستند (بور و کویپر، 1966) و خشک شدن (هاریسون، 1977) و از چنین سفرهایی جان سالم به در نمی برند، مگر اینکه با مراقبت شدید انجام شوند. چنین آسیب‌پذیری همچنین به حفظ ارتباط محلی جمعیت‌های ناقل با ایزوله‌های ویروس کمک می‌کند. انتشار PEBV در فواصل طولانی تر احتمالاً از طریق انتقال بذر است

علائم خسارت:

نخود

علائم پیشرفته در محصول به صورت لکه های قهوه ای با رشد ضعیف نشان می دهد، به ویژه زمانی که عفونت با PEBV در اوایل فصل اتفاق می افتد (Bos and van der Want, 1962). گیاهان درون این لکه ها کند شده و ممکن است بمیرند، که اغلب منجر به هجوم علف های هرز در مناطق محصول می شود. Hubbeling و Kooistra (1963) دریافتند که گیاهان بیمار در هوای گرم تا حدودی بهبود می یابند، اما علائم می توانند در دوره سرد دوباره ظاهر شوند و بهبودی هرگز کامل نشد. گیاهان منفرد می توانند تغییر رنگ نکروزه قهوه ای مایل به ارغوانی را نشان دهند که به صورت نکروز عروقی شروع می شود. گان (1963) گزارش داد که اولین علامت، معمولاً شناسایی نشده، نکروز داخلی ساقه است. ساقه ها ممکن است به راحتی بشکنند. نکروز قهوه ای خارجی در امتداد رگبرگ های ساقه، نوک و برگ گسترش می یابد و بافت برگ ممکن است لکه های قهوه ای کوچکی را نشان دهد. رویه گیاهان ممکن است زردی یا خال‌خالی نشان دهد و اغلب نکروزه می‌شود که منجر به رشد شاخه‌های جدید می‌شود که به نوبه خود لک شدن و رگه‌دار شدن را نشان می‌دهند. غلاف ها می توانند تغییر رنگ ارغوانی و لکه های نکروزه، الگوهای حلقه یا حفره ها را نشان دهند و ممکن است به دنبال عفونت اولیه کوچک و مخدوش شوند (Gane, 1963; Harrison, 1966; Lockhart and Fischer, 1976). علائم می تواند با ایزوله و تنوع متفاوت باشد. به عنوان مثال، هریسون (1966) نشان داد که شدت علائم پس از عفونت با یک جدایه بریتانیایی همیشه با شدت واکنش به جدایه هلندی همبستگی ندارد. برخی از واریته‌ها ممکن است هیچ علامتی نشان ندهند و در عین حال حاوی غلظت بالایی از ویروس در بافت برگ خود باشند (Harrison, 1966; Kowalska, 1979). Fiederow (1983) دریافت که عفونت سیستمیک هشت رقم نخود عمدتاً بدون علامت است. بذر گیاهان آلوده برخی از واریته های نخود ممکن است تغییر رنگ خاکستری مایل به سبز پوسته دانه را نشان دهد و به شدت چروکیده شود. درصد بالایی از cv نخود. بذر روندو با این علامت معمولاً هنگام کاشت در گلخانه باعث ایجاد گیاهان آلوده بدون علامت می شود، اما برخی از گیاهان از بذرهایی که در خارج کاشته می شوند علائم معمولی PEBV را نشان می دهند که نشان می دهد شرایط محیطی در تولید علائم پس از آلودگی از دانه مهم است (Bos and van der Want, 1962).

باقلا

Bos و van der Want (1962) دریافتند که گیاهان Vicia faba آلوده به طور طبیعی اغلب بدون علامت هستند، اگرچه به طور سیستمیک با غلظت بالای ویروس آلوده می شوند. کوکبین و همکاران (1983) عفونت بدون علامت را در زمینه با ایزوله های بریتانیایی PEBV گزارش کرد. ماهیر و همکاران (1992) اظهار داشت که به نظر می رسد عفونت بدون علامت در شمال آفریقا گسترده است و فیدیرو (1980، 1983) نیز عفونت طبیعی بدون علامت را در لهستان گزارش کرد، اما لاکهارت و فیشر (1976) موزاییک بسیار ملایمی را بر روی باقلا در مراکش گزارش کردند. در مقابل، BBYBV در ایتالیا باعث ایجاد نوارهای رگبرگ زرد، حلقه‌ها و الگوهای خطی در برگ‌ها و حلقه‌های نکروزه قهوه‌ای روی غلاف V. faba آلوده به طور طبیعی شد (روسو و همکاران، 1984)، اما عفونت بدون علامت با BBYBV نیز می‌تواند رخ دهد. ماهیر و همکاران (1992) دریافت که جدایه انحرافی BBYBV AlgR10 علائم تا حدودی نامنظم را در طیفی از ژنوتیپ‌های باقلا ایجاد می‌کند، اما جدایه هلندی PEBV تنها عفونت بدون علامت ایجاد می‌کند، اگرچه گیاهان دارای غلظت بالایی از ویروس بودند. ایزوله لیبیایی LyV66-91 (Bos et al., 1993) می تواند علائم باندبندی رگبرگی را در باقلا ایجاد کند که تا حدودی نشان دهنده موارد تولید شده توسط سروتیپ BBYBV بود، اما واکنش های گیاهی آزمایشی و آزمایش های تزئینی سرولوژیکی نشان داد که آن یک ایزوله از نوع سروتیپ سویه E116 است.

کوکبین و همکاران (1983) دریافتند که برهمکنش ویروس برگ برگ لوبیا (BLRV) با PEBV و ویروس موزاییک نخودی باعث ایجاد علائم نکروز در باقلا می شود که برای عفونت تنها با ویروس ها معمول نیست. تلقیح با PEBV و

BLRV اغلب باعث نکروز برگ و ساقه و گاهی اوقات باعث مرگ زودرس گیاهان می شود. Fiederow (1983) هیچ اثر هم افزایی بر روی علائم ناشی از PEBV بر روی باقلا در حضور موزاییک زرد لوبیا یا ویروس‌های موزاییک واقعی لوبیا گزارش نکرد.

لوبیا فرانسوی

عفونت بدون علامت با PEBV در گیاهان کشت شده در مزرعه *Phaseolus vulgaris* توسط Bos و van der Want (1962) مشاهده شد. عفونت که قبلاً از سوئد گزارش نشده بود توسط گرهاردسون و رایدن (1979) به عنوان PEBV یافت شد. باعث ایجاد لکه های موزاییک و نکروزه یا تشکیل حلقه، کاهش رشد و تغییر شکل جزئی برگ در گیاهان مزرعه ای P. vulgaris cv شد. بونیتا. هریسون (1973) گزارش داد که لوبیا فرانسوی cv. شاهزاده به ندرت به طور سیستماتیک آلوده می شد.

لوپین

عفونت در لهستان که باعث تاخیر در رشد و مرگ ساقه در لوپین زرد (e) آلوده به طور طبیعی (*Lupinus luteus*) می شود توسط Pospieszny و Frencel (1985) گزارش شد و PEBV از گیاهان آسیب دیده جدا شد. گیاهان همزمان با ویروس موزاییک خیار آلوده شدند و مشخص نیست که PEBV چه تأثیری بر علائم مشاهده شده داشته است. Bos و van der Want (1962) هیچ عفونت طبیعی لوپین زرد پیدا نکردند.

یونجه

Bos و van der Want (1962) عفونت طبیعی بدون علامت را با ایزوله PEBV گزارش کردند. گیاهان آلوده به طور طبیعی در انگلستان، انگلستان، الگوهای خطی کلروتیک یا خطوط نکروزه سفید را روی برگچه ها نشان دادند که اغلب تحریف شده بودند (گیبز و هریسون، 1964).

علائم توسط بخش آسیب دیده گیاه

برگ: ضایعات; رنگ های غیر طبیعی؛ الگوهای غیر طبیعی

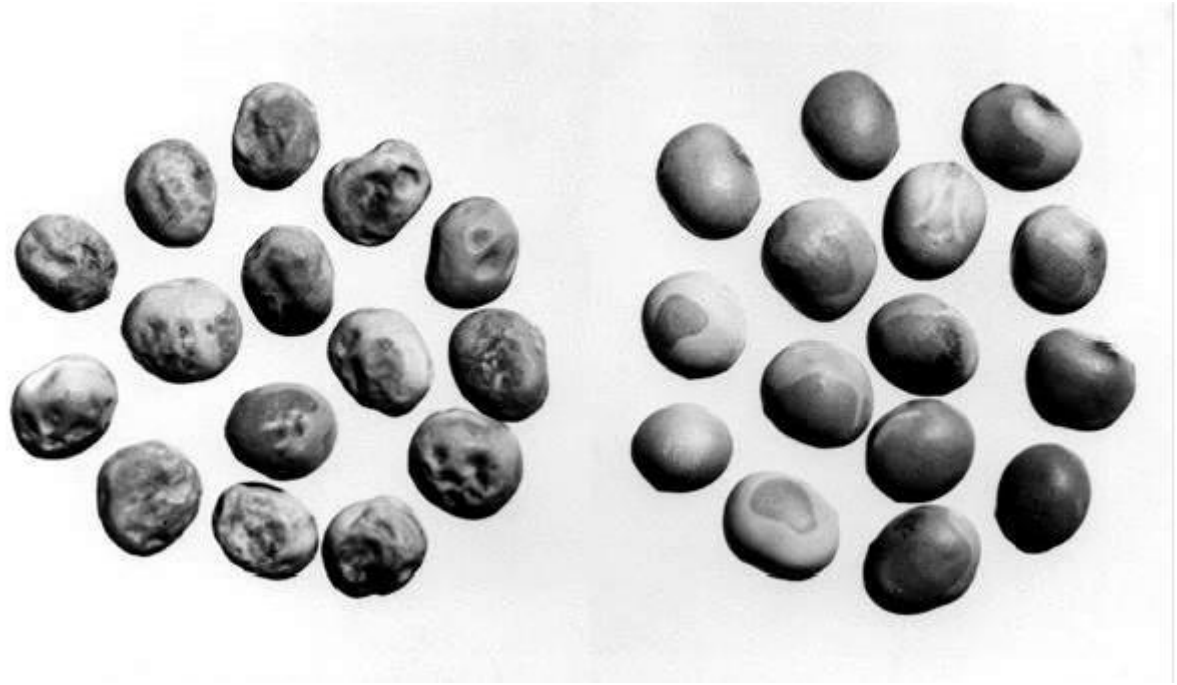
دانه ها: تغییر رنگ.

گیاه کامل: کوتوله; پیری زودرس

Symptoms on pea plant: Symptoms of PEBV on pea, showing necrosis of leaves and stem

Symptoms on pea plant: Symptoms of PEBV on pea, showing browning and death of leaves

.



Damaged and healthy pea seeds: Seed of pea cv. Rondo, showing severe wrinkling caused by infection with PEBV (left) compared with healthy seed (right).

Symptoms on pea plant: Symptoms of PEBV on pea, showing necrosis of leaves and stem.

Pea early browning virus (PEBV) - Stock Image - C027/3163 - Science...

Creator: Nigel Cattlin/SCIENCE PH...| Credit: Nigel Cattlin/SCIENCE PH...

Copyright: Nigel Cattlin/SCIENCE PHOTO LIBRARY

راههای انتقال و انتشار:

PEBV در چندین میزبان از طریق بذر است. لاکهارت و فیشر (1976) دریافتند که یک جدایه مراکشی از PEBV را می توان از 30 درصد دانه های نخود بازیابی کرد، اما پوشش دانه حاوی هیچ ویروسی نبود. در لهستان، Kowalska (1979) نیز جداسازی PEBV از دانه نخود را گزارش کرد. کوکبین و همکاران (1983) آلودگی بذر را تا 5 درصد در دو گونه از سه رقم باقلا پس از تلقیح شیره گزارش کرد. Fiederow (1980، 1983) عفونت با PEBV را 10٪ و انتقال تا 8٪ را در دانه باقلا کشت شده در گلخانه گزارش کرد، اما تنها 0.3٪ از بذر گیاهان رشد یافته در شرایط مزرعه آلوده شد. بذر گیاهان آلوده به شیره گیاه Phaseolus vulgaris که توسط Bos و van der Want (1962) آزمایش شده بودند، حاوی PEBV نبودند. نرخ آلودگی 4 درصد در دانه Nicotiana rustica تلقیح شده با AlgR10، اولین گزارش انتقال بذر PEBV در غیر حبوبات ثبت شد.

جنین های نخودفرنگی از همان مراحل اولیه رشد جنین به طور یکنواخت با PEBV آلوده شدند و ویروس در سلول تخم و دانه های گرده شناسایی شد که نشان دهنده انتقال گامتیک به جنین است (وانگ و ماول، 1997).

وانگ و همکاران (1997) جهش هایی را در ژنوم PEBV برای بررسی عوامل ویروسی انتقال ویروس از گیاه مادر به دانه در نخود معرفی کردند. حذف بخشی از ژنوم حاوی سه ژن غیرساختاری در RNA2 یا قطع هر یک از سه ژن بر انتقال بذر PEBV تأثیری نداشت. حذف توالی کد کننده ژن K12 در RNA1 تقریباً به طور کامل از انتقال بذر ویروسی جلوگیری کرد. بدون ژن K12، ویروس علائم شدیدتری روی برگ‌ها و غلاف‌های نخود ایجاد کرد و در سطوح بالاتری در این بافت‌ها تجمع یافت. با این حال، در بساک ها و برچه ها تجمع نکرد و در دانه های گرده یا تخمک ها مشاهده نشد. پیشنهاد می‌شود که ژن K12 در عفونت سلول‌های گامتیک و در نتیجه در انتقال بذر PEBV در نخود نقش داشته باشد.

تاثیر بر کیفیت بذر

Bos و van der Want (1962) دریافتند که گیاهان آلوده به PEBV گونه نخودی Rondo می توانند نسبتی از دانه های چروکیده و خاکستری مایل به سبز تولید کنند.

انتقال پاتوژن

Wang و Maule (1997) گزارش کردند که جنین های دانه نخود به طور یکنواخت با PEBV از اولین مراحل رشد جنین آلوده شدند.

با توجه به Bos و van der Want (1962) بروز PEBV در یک محصول رشد کرده در خاکی که قبلاً حامل ویروس نبوده است، به میزان آلودگی اولیه بذر و انتقال آن به گیاهان نتاج و احتمالاً بین آنها، در صورت وجود نماتدهای ناقل، بستگی دارد. برای مثال، ویروس از طریق تماس با محلول‌پاشی یا حشرات ناقل در بالای سطح زمین پخش نمی‌شود و بعید است که درصد کمی از عفونت بذر باعث آسیب جدی به محصول شود. Bos و van der Want (1962) همچنین خاطرنشان کردند که برای اینکه خاکی که قبلاً عاری از ویروس از طریق بذر آلوده شود، باید "پذیرا" باشد. خاک پذیرا یک نوع شنی یا با بافت سبک است که در آن گونه های ناقل نماتدها وجود دارند و شرایط برای فعال بودن آنها برای جذب، نگهداری و انتقال ویروس جدا شده مساعد است. بعید است که نماتدهای عفونی ویروس را در فواصل کوتاه با روش های طبیعی پخش کنند.

آزمایشات سلامت بذر

سرولوژیکی

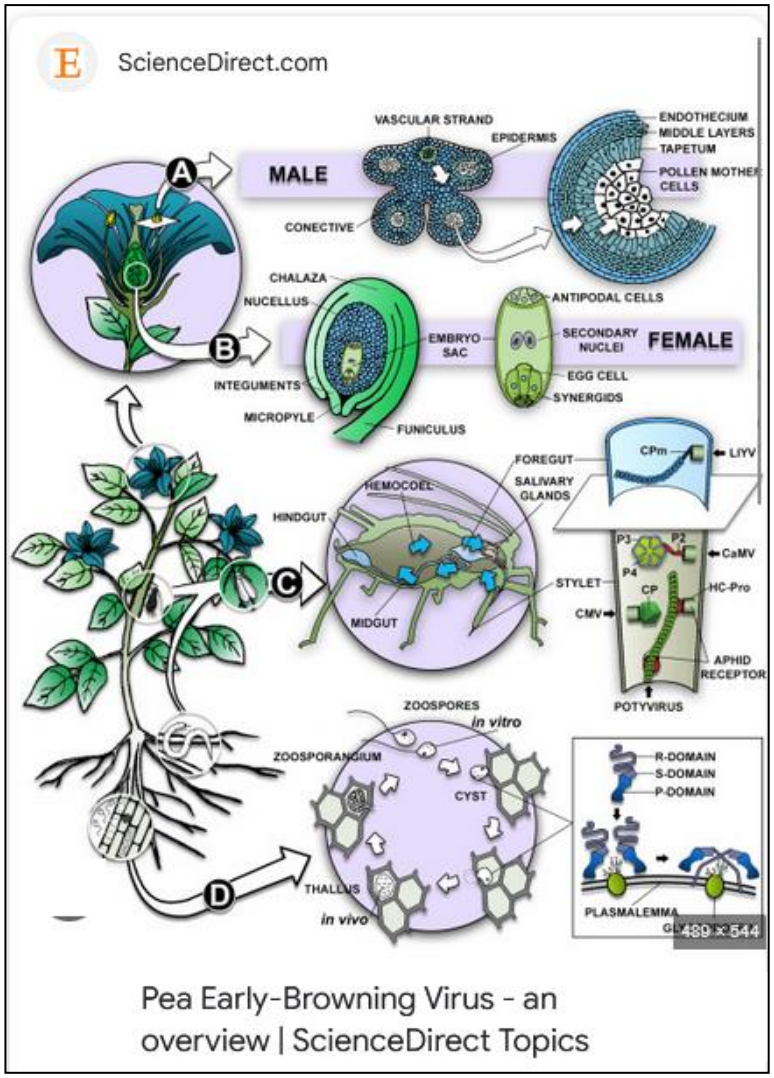
روش‌های اتصال نقطه‌ای ایمنی (Lange و همکاران، 1989)، ELISA (Van Vuurde و Maat، 1985) و روش‌های سنجش ایمنی رنگ پراکنده (Van Vuurde و Maat، 1985) توصیف شده‌اند.

انتقال توسط ناقلین

ناقلین نماتدهای ریشه کلنگ (Trichodorus spp.) هستند. T. teres و T. pachydermus ناقلین در هلند (ون هوف، 1962) و T. anemones، T. primitivus و T. viruliferus در انگلستان هستند (Harrison & Gibbs، 1964؛ Harrison، 1966، 1967T. anemones). و T. similis جدایه هلندی را منتقل نکردند. نر بالغ، ماده بالغ و جوان T. primitivus می توانند ویروس را تلقیح کنند که می تواند حداقل 32 روز توسط نماتدهایی که بدون گیاه نگهداری می شوند حفظ شود (Harrison, 1966).

انتقال از طریق بذر

جدایه هلندی به آسانی از طریق بذر (37٪) در رقم نخود منتقل می شود. روندو. دانه های حامل ویروس چروکیده و تغییر رنگ می دهند. ویروس به راحتی در دانه های آسیب دیده شناسایی می شود (Van der Want, 1962 & Bos). جدایه های بریتانیایی از طریق 2-1 درصد بذر چندین رقم نخود منتقل شدند (B. D. Harrison، نتایج منتشر نشده).



اقدامات قرنطینه ای:

ویروس زود هنگام قهوه‌ای شدن نخود بیشتر در خاک‌های شنی لومی، که توسط ناقل‌های نماتد آن مورد علاقه است، رخ می‌دهد. بر خلاف ویروس جغجغه تنباکو، نخود را بطور سیستماتیک آلوده می کند. این دو ویروس از نظر سرولوژیکی متفاوت هستند و دارای ذرات L با طول کمی متفاوت هستند. ویروس جغجغه تنباکو با بیشتر سویه‌های ویروس زود قهوه‌ای شدن نخود تفاوت دارد و تنها ضایعات کوچکی در برگ‌های لوبیا فرانسوی تلقیح شده ایجاد می‌کند. سایر ویروس های آلوده کننده نخود را می توان با ریخت شناسی ذرات آنها و با واکنش *Chenopodium amaranticolor*، *Nicotiana clevelandii* و *Phaseolus vulgaris* تشخیص داد.

روشهای ردیابی و بازرسی:

تشخیص علائم عفونت در جایی که در مزرعه رخ می دهد، مانند قهوه ای شدن و کوتاه شدن رشد نخود در تکه های محصول، می تواند نشانه ای باشد که PEBV علت آن است. بررسی میکروسکوپ الکترونی، در صورت امکان، شیره گیاهان ممکن است وجود ذرات مشخصه یک توبراویروس را نشان دهد. خاک را می توان برای وجود ویروس منتقل شده از طریق نماتد با رشد بوته های طعمه نخود آزمایش کرد، اما از آنجایی که برخی از ژنوتیپ های نخود نسبت به برخی جدایه های PEBV مقاومت نشان می دهند اما به برخی دیگر مقاومت نشان نمی دهند (Harrison، 1966)، لازم است طیف وسیعی از واریته ها را در یک خاک خاص آزمایش کرد. ریشه های خیار (*Cucumis sativus*) نیز با انتقال نماتد PEBV آلوده می شوند (Harrison, 1973).

دانه نخود را می توان از نظر چروکیدگی شدید و تغییر رنگ خاکستری متمایل به سبز پوسته دانه بررسی کرد، اگرچه این اثر ممکن است در دانه های همه گونه ها رخ ندهد.

واکنش‌های طیف وسیعی از گیاهان میزبان تجربی به طور کامل در گزارش‌های وقوع PEBV توضیح داده شده است. تلقیح مکانیکی عفونت مشکوک بر روی گیاهان آزمایشی به طور گسترده برای تشخیص مثبت حضور PEBV و برای شناسایی ایزوله ها و نوترکیب ها استفاده شده است. برگهای اولیه تلقیح شده *Phaseolus vulgaris* ضایعات قهوه ای مایل به قرمزی به قطر 3 میلی متر ایجاد می کنند که بسیار بزرگتر از ضایعات نقطه ای معمولی ناشی از تلقیح با جدایه های ویروس جغجغه تنباکو (TRV) است، اگرچه برخی از ایزوله های نوع NM از PEBV نیز ممکن است ضایعات دقیق ایجاد کنند (Lister, 196). برخلاف PEBV، TRV حبوبات را به طور سیستماتیک آلوده نمی کند (هاریسون و رابینسون، 1981). ماهیر و همکاران (1992) برای اولین بار عفونتزایی PEBV را روی عدس گزارش کرد. به طور کلی، تلقیح شیره بر روی گیاهان آزمایش علائم مشخصه یک سروتیپ خاص را ایجاد می کند. تفاوت های ظریف در واکنش می تواند در یک سروتیپ رخ دهد، به عنوان مثال Bos و همکاران. (1993) دریافتند که دو گونه نخود، گونه *Nicotiana* و *Phaseolus vulgaris* پس از تلقیح با جدایه لیبیایی LyV66-91 نسبت به سایر جدایه های سروتیپ مشابه رفتار متفاوتی داشتند.

عفونت سیستمیک مداوم و آهسته و علائم شدید توسط ایزوله‌های نوع NM از PEBV در *N. clevelandii* ایجاد می‌شوند، به عنوان مثال، برخلاف علائم سریع و گذرا ایزوله‌های نوع M. (گیبز و هریسون، 1964). چنین واکنش هایی را باید تنها به عنوان ارائه شواهدی از یک ویروس خاص در نظر گرفت (هاریسون و رابینسون، 1986). جدایه‌های نوع NM را می‌توان با عدم یافتن ذرات در میکروسکوپ الکترونی، با عفونی‌پذیری بیشتر عصاره‌های فنلی، و از دست دادن عفونت‌پذیری در شیره پس از چرخه‌های انجماد و ذوب متناوب شناسایی کرد (رابینسون و هریسون، a1985). جدایه های نوع NM PEBV همچنین ممکن است علائم شدیدتری نسبت به انواع M در برخی گونه های گیاهی آزمایشی ایجاد کنند (هاریسون و رابینسون، 1986).

روش‌های سرولوژیکی که برای تشخیص PEBV مورد استفاده قرار گرفته‌اند شامل تست‌های پرسیپیتین، ژل دودیفیوژن، ISEM و ELISA می‌باشد. تشخیص می تواند مستقیماً از شاخ و برگ و ریشه گیاهان آلوده سیستمیک باشد. یک روش

قابل اعتماد، تلقیح عصاره از ریشه گیاهان آلوده به مزرعه بر روی *N. clevelandii* و به دنبال آن سرولوژی است. Van Vuurde و Maat (1985) دو اصلاح ELISA را برای تشخیص PEBV در دانه‌های نخود ارزیابی کردند، و یک روش ایمونو اتصال نقطه‌ای با موفقیت PEBV را در دانه نخود همگن شناسایی کرد (Lange و همکاران، 1989).

با این حال، به دلیل تنوع گسترده RNA-2، که پروتئین پوشش ذرات را کد می کند، تنوع گسترده ای از روابط آنتی ژنی بین سروتیپ ها وجود دارد و ویژگی ناقل و القای علائم نیز بسیار متغیر است. ایزوله های نوع NM را نمی توان از نظر سرولوژی تشخیص داد زیرا پروتئین پوششی ندارند. به طور کلی، بر خلاف اکثر ویروس های گیاهی، تشخیص سرولوژیکی توبراویروس ها نه تنها قطعی نیست، بلکه می تواند گمراه کننده باشد (رابینسون و همکاران، 1987؛ بولتون، 1996). برای مثال، جدایه های غیرعادی TRV را می توان از نظر سرولوژیکی به عنوان ایزوله های PEBV شناسایی کرد (رابینسون، 1989) بدون اینکه هویت واقعی آنها آشکار شود. جدایه هایی که دارای RNA-1 شبه PEBV و RNA-2 شبه TRV هستند گزارش نشده اند، اما اگر وجود داشته باشند، خصوصیات سرولوژیکی را پیچیده تر می کند. طراحی یک تست سرولوژیکی برای تشخیص طیف وسیعی از انواع غیرممکن خواهد بود (رابینسون و همکاران، 1992). تشخیص PEBV توسط ELISA شاید برای برخی از برنامه های غربالگری معمول کافی باشد، مشروط بر اینکه از آنتی سرم های مناسب برای ایزوله ها استفاده شود.

تکنیک های هیبریداسیون DNA از زمان معرفی آنها برای تشخیص ویروس های گیاهی به طور گسترده ای مورد استفاده قرار گرفته است. برای TRV، یک کاوشگر RNA-1 تمام انواع سرولوژیکی، نوترکیب ها و ایزوله های نوع NM را شناسایی کرده و آنها را از PEBV و PRV متمایز می کند (رابینسون، 1989). آزمایش برای ایزوله های نوع NM با هیبریداسیون cDNA پیچیده تر و پر زحمت تر از ایزوله های نوع M است (رابینسون و لگوربرو، 1988؛ رابینسون، 1989، 1992).

واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) برای تشخیص TRV استفاده شده است (رابینسون، 1992) و همچنین توانست TRV را از سه سروتیپ PEBV و PRV متمایز کند. تمام ایزوله‌های نوع M و نوع NM آزمایش‌شده، از جمله جدایه‌های نوع M با تنوع آنتی‌ژنی از نرگس آلوده به‌طور طبیعی شناسایی شدند. در کار قبلی (هاریسون و همکاران، 1983) کمتر از نیمی از این ایزوله‌ها توسط ISEM و تعداد کمتری توسط ELISA شناسایی شدند، که بیشتر محدودیت‌های تشخیص سرولوژیکی توبراویروس‌ها را نشان می‌دهد. طراحی آزمایش PCR مشابه برای تشخیص PEBV نباید دشوار باشد.

منابع:

CAB International. 2025. Crop Protection Compendium. 2025 Edition . CAB, International . Wallingford, Oxon, UK.

https://plantwiseplusknowledgebank.org/doi/full/10.1079/pwkb.species.39438

https://www.sciencephoto.com/media/700034/view/pea-early-browning-virus-pebv-

https://www.dpvweb.net/dpv/showdpv/?dpvno=120