



جمهوری اسلامی ایران

وزارت جهاد کشاورزی

سازمان حفظ نباتات کشور



راهنمای شناسائی و ردیابی

آفت قرنطینه خارجی

ویروس لکه حلقوی تمشک

Ringspot of raspberry

Raspberry ringspot virus

تهیه و تنظیم:

احمد چراغیان

دفتر پایش و تحلیل خطر

1404

ویروس لکه حلقوی تمشک

Raspberry ringspot virus

Virus Group: Virus

Family: Comoviridae

Genus: Nepovirus

نام های مترادف :

Raspberry ringspot nepovirus
Raspberry Scottish leaf curl virus
Redcurrant ringspot virus
Red currant ringspot virus

نام عمومی بیماری:

ringspot of raspberry,	spoon leaf of red currant
leaf distortion of gooseberry,	Cherry pfeffinger disease
Raspberry Lloyd George yellow blotch,	Pfeffinger disease of sweet cherry
European rasp leaf of cherry,	ringspot disease of raspberry
ringspot disease of strawberry,	ringspot disease of redcurrant
ringspot disease of flowering currant,	Cherry rasp leaf
spoon leaf: red currant	

اهمیت اقتصادی:

وقوع طبیعی RpRSV معمولا بصورت آلودگی لکه‌ای گیاهان کاشته شده است، که این موضوع منعکس کننده گسترش نماتد ناقل می‌باشد. ظهور علائم برگ‌ی در گیاهان آلوده، اغلب به جدایه ویروس، ژنوتیپ گیاه و شرایط محیطی تعریف شده برای بیماری، بر می‌گردد. در تمشک، آلودگی بصورت زردی رگبرگ، موزائیک، لکه‌های حلقوی سبززد و یا بسته به نوع رقم گیاه، بصورت پیچیدگی برگ‌ها دیده می‌شود. نشانه‌های بیماری ممکن است در اواسط تابستان محو شده و مجددا در پاییز دیده شوند. ارقام حساس دچار کوتولگی شده و ممکن است طی مدت 2 تا 3 سال از تظاهر اولیه علائم، از بین بروند. دیگر کولتیوارها نیز از نظر توانمندی و قدرت گیاه کاهش می‌یابند. تعدادی از ارقام تمشک به برخی از جدایه‌های ویروس مصون هستند (Murant, 1987; Jones et al., 1989). در رقم بسیار حساس Norfolk Giant ممکن است بخشی از شاخه‌ها در طول زمستان از بین بروند و آن قسمت از شاخه که باقی می‌ماند، دچار کوتولگی شده و برگ‌ها پیچیده و بطور پیش‌رونده-ای از نوک شاخه دچار نکروز و سرخشیدگی می‌گردند. در صورتیکه در ارقامی که حساسیت کمتری نسبت به این بیماری دارند مانند، Malling Enterprise ، Malling Jewel و Malling Notable نشانه‌های بیماری روی برگ‌های سرشاخه‌های جوان ظاهر شده اما علائم روی برگ‌های شاخه بارده بسیار خفیف بوده و یا اصلا دیده نمی‌شود. روی برگ‌های جوان ولی توسعه یافته، نشانه‌های زردی، لکه حلقوی، نقش برگ بلوطی، لکه‌های کلروتیک و در طول رگبرگ‌های کوچک‌تر کلروز شبکه‌ای، آشکار می‌شوند. تعدادی از آنها نیز ممکن است دچار بافت مردگی و سرخشیدگی گردند. در رقم Malling Promise توسعه علائم بسیار کند است و زوال اتفاق نمی‌افتد. دو رقم Lloyd George و Malling Landmark نسبت به اغلب جدایه‌ها ایمنی دارند اما به استرین لکه زردی Lloyd George حساسیت نشان می‌دهند (Murant, 1987). با این وجود کولتیوارها ممکن است بدون داشتن نشانه‌های مشخص، آلودگی داشته باشند. در این ارقام ممکن است آلودگی ریشه‌ها به تازگی اتفاق افتاده و ویروس هنوز فرصت حمله به شاخه‌ها را پیدا نکرده باشد، یا ویروس در بیان و توسعه علائم دچار نوسانات شده و یا اینکه آن رقم کاملا به بیماری مقاوم باشد (Jones et al., 1989).

توت فرنگی نیز بسته به نوع کولتیوار ممکن است لکه‌ها و یا حلقه‌های سبززد و کلروز عمومی نشان دهد. این علائم نیز در اواسط تابستان محو می‌شوند. گیاهان بطور کاملا مشخص دچار کوتولگی شده و پیش از کامل شدن رشدشان از بین می‌روند.

لیکن این نشانه‌ها ممکن است مطابق با فصل و یا جدایی ویروس متفاوت باشند. بیماری روی رقم Huxley بصورت لکه‌های کاملاً مشخص سبزرده با شکل نامشخص توسعه می‌یابد.

در رقم Royal Sovereign نیز علائم بصورت لکه‌های نکروتیک موضعی دیده می‌شود (Murant and Lister, 1987).

بطور کلی نشانه‌های بیماری روی توت فرنگی در طول اولین سال آلودگی بصورت لکه‌های زرد دیده می‌شوند.

در گیلاس ویروس RpRSV به همراه ویروس تیپ لکه حلقوی بافت مرده هسته داران موجب برگ سوهانی می‌شوند (Cropley, 1961). برگ‌های درخت آلوده معمولاً از نظر اندازه کاهش یافته، باریک و خشن می‌گردند همچنین بطور غیر عادی بصورت مضرس و خشن در می‌آیند. بسته به حساسیت کولتیوار روی سطح پایینی برگ‌ها تاول‌هایی دیده می‌شود که این تاول‌ها ممکن است کم یا زیاد، کوچک یا بزرگ باشند که بیشتر در نواحی نزدیک به رگبرگ میانی دیده می‌شوند. هر دو نوع این تاول‌ها ممکن است روی یک درخت باشند و یا اینکه بطور همزمان در مراحل مختلف آلودگی وجود داشته باشند. درختان جوان و حساس کولتیوار Bing که در تابستان پیوند جوانه شده‌اند معمولاً نشانه‌های واضح در سال جدید را نشان می‌دهند (Cropley, 1961). در انگور یکی از سروتیپ‌های این ویروس علائم مشابه ویروس برگ‌بادبزی می‌آید (Jones et al., 1994). 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):

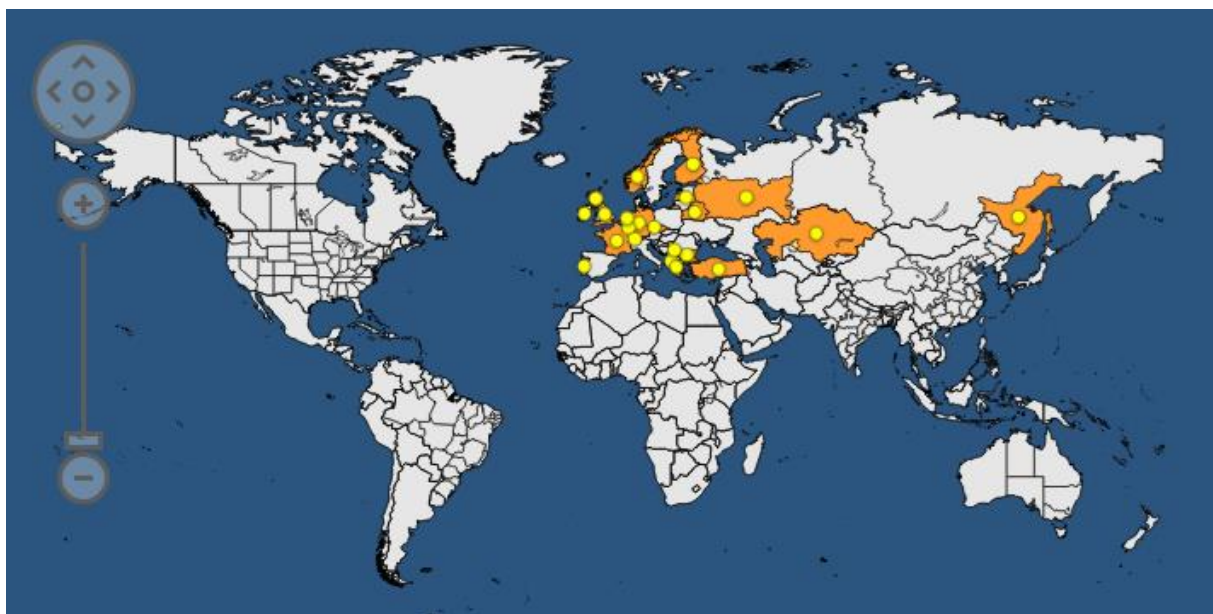
Fragaria ananassa (strawberry), *Ligustrum vulgare* (privet), *Narcissus* (daffodil), *Prunus avium* (sweet cherry), *Ribes* (currants), *Rubus idaeus* (raspberry), *Vitis vinifera* (grapevine), *Weigela* (cardinal-shrub)

Minor hosts (میزبان های فرعی):

Cynara cardunculus L. var. *scolymus* (globe artichoke), *Daphne*, *Forsythia* (golden bells), Phlox

پراکنش جغرافیائی:

اروپا: آلبانی، بلغارستان، بلاروس، بلژیک، جمهوری چک، فنلاند، فرانسه، آلمان، یونان، لیتوانی، لوکزامبورگ، نروژ، پرتغال، اسلواکی، هلند، روسیه، سوئیس، انگلستان، قزاقستان، ترکیه

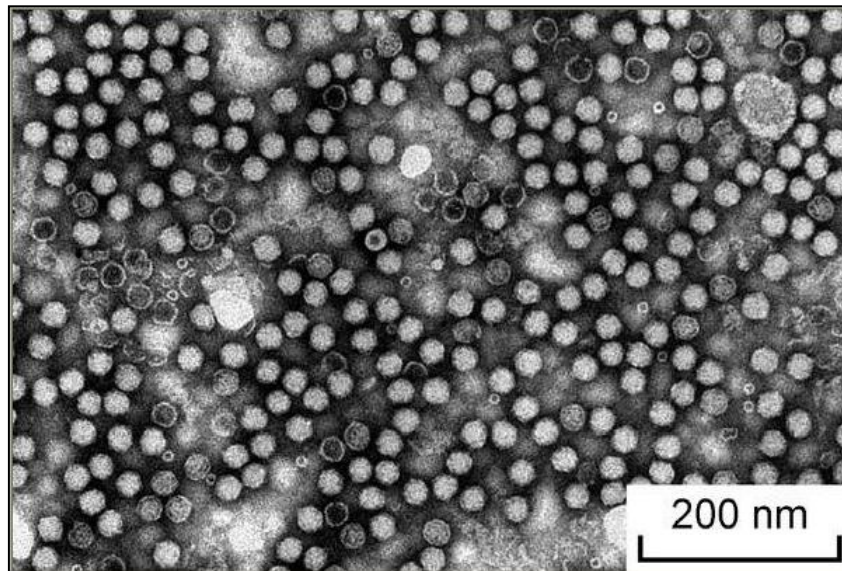


نقشه پراکنش جغرافیائی بیماری ویروس Raspberry ring spot virus

شکل شناسی:

پیکره‌های ویروسی چند وجهی، به قطر 28 نانومتر و دارای زوایای خارجی مشخص است. در میکروگراف الکترونی پیکره‌های ویروس نشان داده شده است که تعدادی از پارتیکل‌ها تا حدی نسبت به فسفوتنگستنت نفوذ پذیری دارند، برخی دیگر بطور کامل و تعدادی نیز نفوذپذیری ندارند. پوشش پروتئینی احتمالا شامل 60 زیر واحد پلی‌پپتیدی است که بصورت ساختمان $T=1$ مرتب شده است (Mayo et al., 1971). پیکره‌ها بطور دو نوع ترکیب نوکلئوپروتئینی M و B، به ترتیب با ضریب رسوب 29S و 130S رسوب می‌یابند. بیشتر ایزوله‌ها علاوه بر این دو نوع پیکره؛ شامل ترکیب فاقد RNA بنام پیکره‌های T با ضریب رسوب 50S می‌باشند (Mayo and Robinson, 1996). ویروس RpsRSV دارای دو نوع RNA تک رشته‌ای است؛ RNA-1 تنها در پیکره‌های نوع B می‌باشد. در صورتیکه RNA-2 در هر دو نوع پیکره B و M وجود دارد. پیکره نوع M تنها محتوی RNA-2 است در حالیکه پیکره B ممکن است مولکول RNA-1 و یا RNA-2 را در بر داشته باشد (Mayo et al., 1973). در واسرشت‌سازی گلیوکسال و بررسی ژل آگارز اندازه این RNAها به ترتیب $2/8 \times 10^6$ و $1/4 \times 10^6$ تعیین شده است (Murant et al., 1981). توالی کامل 3928 نوکلئوتیدی RNA-2 از ایزوله اسکاتلندی ویروس معین شده است (Blok et al., 1992).

هر دو نوع RNA برای ایجاد آلودگی در گیاهان ضروری هستند (Harrison et al., 1972). در انتهای 3 RNAهای ژنومی توالی پلی‌آدینینی وجود دارد. احتمالا یک پروتئین متصل به ژنوم نیز به وزن مولکولی $r > 4000$ Msub در انتهای 5 این RNAها است. ژن کد کننده پروتئین پوششی ویروس در RNA-2 قرار دارد. که در بررسی ژل SDS پلی‌اکریل‌آمید وزن مولکولی آن $r > 54000$ Msub تخمین زده شده است (Mayo et al., 1971). پیکره‌های ویروسی ظاهرا از 60 زیر واحد تشکیل شده‌اند.



پیکره‌های ویروس: پیکره‌های خالص و رنگ آمیزی شده RpsRSV در فسفوتنگستنات سدیم
pH 6.0 Scale bar = 200 nm.

زیست‌شناسی و اکولوژی

خصوصیات ویروس

بیشتر جدایه‌ها قدرت آلوده‌کنندگی خود را در عصاره گیاهان علفی مانند *Nicotiana rustica* تحت شرایطی از جمله: گرمادهی در 65°C – 70°C به مدت 10 دقیقه، رقیق‌سازی عصاره 10^{-3} تا 10^{-5} و یا نگهداری در دمای 20°C به مدت 21–14 روز از دست خواهند داد (Murant, 1978). ویروس در عصاره گیاهی نگهداری شده در دمای 15°C –، می‌تواند سال‌ها بقای خود را حفظ نماید.

انتقال توسط نماتد

ویروس RpRSV بوسیله گونه‌های نماتد آزاد و خاکری *Longidorus* منتقل می‌شوند (Brown et al., 1996). ولی مدارک مستند و قوی از انتقال طبیعی یک گونه غیر معمول از سروتیپ انگلیسی در انگورهای کشور آلمان توسط نماتد *Paralongidorus maximus* ارائه گردید (Jones et al., 1994).

در انتقال جدایه‌های متعلق به سروتیپ اسکاتلندی RpRSV، نماتد *L. elongatus* و سروتیپ انگلیسی، نماتد گونه *L. macrosoma* بیشترین کارایی را دارند (Brown et al., 1996). با این حال بطور کل کارایی انتقال توسط نماتدها نسبتاً ضعیف است. اختصاصی بودن ناقل با تعیین RNA-2 و احتمالاً وجود پروتئین پوششی ویروس مشخص شده است (Harrison et al., 1974). هم لارو و هم نماتد بالغ، قابلیت انتقال ویروس را دارند ولی ویروس در بدن ناقل تکثیر نمی‌شود، همچنین نه تنها پس از جلداندازی حفظ نمی‌شود، بلکه به نسل بعدی نیز منتقل نمی‌شود. در خاک آیش نماتد *L. elongatus* به مدت بیش از 9 هفته، توانایی آلوده‌سازی را دارد. (Lister and Murant, 1967; Murant, 1978). پیکره‌های شبه ویروسی به غلاف استایلت هادی و Lumen نماتد حامل ویروس متصل می‌شوند (Brown et al., 1996). جدایه‌های سروتیپ اسکاتلندی RpRSV به همراه سروتیپ لکه حلقوی چغندر قند و نپوویروس حلقه سیاه گوجه‌فرنگی (Tomato black ring nepovirus) که هر سه ویروس توسط نماتد ناقل *L. elongatus* منتقل می‌شوند، می‌توانند در خاک یافت شوند.

انتقال توسط بذر

از آنجا که ویروس تنها به مدت چند هفته در بدن نماتد ناقل قابل نگهداری است، انتقال بذری یک ویژگی مهم در اپیدمیولوژی RpRSV محسوب می‌گردد. بنابراین بقای آن در بذور گیاهان وحشی می‌تواند موجب بقای ویروس در طول زمستان و یا در طول فصل آیش گردد (Murant and Taylor, 1965; Lister and Murant, 1967; Murant and Lister, 1967). آلودگی بذر هم از طریق دانه گرده و هم از طریق تخمدان گیاه می‌تواند صورت بگیرد. تاکنون آلودگی بذری این ویروس حداقل در 6 گونه از 5 خانواده گیاهی گزارش شده است. در برخی از گیاهان آلودگی بیش از 50٪ به نشاءهای نسل بعد منتقل می‌شود. لیکن بسیاری از نشاءهایی که از طریق بذر، آلوده شده‌اند، بدون علائم باقی می‌مانند.

نژادها:

تاکنون بسیاری از جدایه‌های سرولوژیکی RpRSV شناخته شده‌اند که بطور قابل توجهی از نظر دامنه میزبانی و علائم شناختی، متفاوت می‌باشند (Murant et al., 1968; Murant, 1978; Jones, 1985; Jones et al., 1989). بر اساس گزارشات، بیشترین مطالعه روی جدایه‌های RpRSV، غالباً متعلق به دو سروتیپ اسکاتلندی و انگلیسی می‌باشد. این دو سروتیپ از نظر سرولوژیکی در فاصله دوری نسبت به برخی از ایزوله‌های انگور Chardonnay آلمان (Vuittenez et al., 1970; Jones, 1985) قرار دارند. در گذشته یک جدایه از مارچوبه (Rana et al., 1985) در یونان و ترکیه به عنوان یکی از سروتیپ‌های RpRSV شناخته شده بود (Jones, 1985; Rana et al., 1985) که این ویروس اخیر هم اکنون با نام مشخص ویروس لکه حلقوی Aegean مارچوبه (Murant et al., 1996) شناخته می‌شود. زیرا تنها 7 درصد از توالی نوکلئوتیدی این ویروس با توالی

استرین انگلیسی RpRSV مشابهت دارد (Robinson and Clark, 1987). احتمالاً جدایه‌های انگور Chardonnay آلمان و گیلان سوئیس نیز به عنوان ویروس‌های مشخص به حساب آورده می‌شوند (Murant et al., 1996).

علائم خسارت:

در تمشک:

وقوع طبیعی RpRSV معمولاً بصورت آلودگی لکه‌ای گیاهان کاشته شده است، که این موضوع منعکس کننده گسترش نماتد ناقل می‌باشد. ظهور علائم برگ‌ی در گیاهان آلوده، اغلب به جدایه ویروس، ژنوتیپ گیاه و شرایط محیطی تعریف شده برای بیماری، بر می‌گردد. در رقم بسیار حساس Norfolk Giant ممکن است قسمتی و یا تمام شاخه‌ها در زمستان از بین بروند و شاخه‌های باقی مانده، کوتاه با برگ‌های لوله شده که از نلحیه نوک شاخه‌ها بطور پیش‌رونده‌ای دچار سرخشکیدگی به همراه نکروز می‌گردند. در رقم‌هایی با حساسیت کمتر مانند، Malling Jewel، Malling Enterprise و Malling Notable، در بهار علائم آلودگی روی سرشاخه‌های جوان ظاهر شده اما علائم روی برگ‌های شاخه بارده بسیار خفیف بوده و یا اصلاً دیده نمی‌شوند. برگ‌های جوان و توسعه یافته، بطور واضح دارای نشانه‌های زردی، لکه حلقوی، نقش برگ بلوطی، لکه‌های کلروتیک و در طول رگبرگ‌های کوچک‌تر کلروز شبکه‌ای، آشکار می‌شوند. تعدادی از آنها نیز ممکن است دچار بافت مردگی و سرخشکیدگی گردند. در رقم Malling Promise توسعه علائم بسیار کند است و زوال اتفاق نمی‌افتد. دو رقم Lloyd George و Malling Landmark نسبت به اغلب جدایه‌ها ایمنی دارند اما به استرین لکه زردی Lloyd George حساسیت نشان می‌دهند (Murant, 1970b). با این وجود تاکید بر این است که تمامی ارقام تمشک ممکن است بدون داشتن نشانه‌های مشخص، آلودگی داشته باشند. در این ارقام ممکن است آلودگی ریشه‌ها به تازگی اتفاق افتاده و ویروس هنوز فرصت حمله به شاخه‌ها را پیدا نکرده باشد، یا ویروس در بیان و توسعه علائم دچار نوسانات شده و یا اینکه آن رقم کاملاً به بیماری مقاوم باشد.

در توت فرنگی:

نشانه‌های بیماری بسته به رقم و فصل متفاوت است. بطور کلی کوتولگی سریع و مرگ ناگهانی گیاهان از مهم‌ترین نشانه‌های بیماری محسوب می‌گردد. در نشاءهای *Fragaria vesca*، علائم در طول اولین سال آلودگی بصورت لکه‌های زرد دیده می‌شوند ولی بعد از آن محو می‌گردند. بیماری روی رقم Huxley بصورت لکه‌های کاملاً مشخص سبزرده با شکل نامشخص و غالباً با مرکز نکروز شده، توسعه می‌یابد. در این رقم هیچ‌گونه نقش خطی یا حلقوی وجود ندارد. علائم روی برگ‌های توسعه یافته در تابستان و یا در شرایط دمایی بالا، کمتر آشکار می‌شوند. در رقم Royal Sovereign نیز علائم بصورت لکه‌های نکروتیک موضعی توسعه می‌یابند (Lister, 1970).

در گیلان:

مدرک بسیار قوی وجود دارد که پیشنهاد می‌کند ویروس RpRSV موجب برگ سوهانی می‌شود. ویروس موزائیک آرابیس نیز در گیلان تا حدی علائم مشابه ایجاد می‌نماید. برگ‌های درخت آلوده معمولاً از نظر اندازه کاهش یافته، باریک و خشن می‌گردند همچنین بطور غیر عادی بصورت مضرس و خشن در می‌آیند. بسته به حساسیت کولتیوار روی سطح پایینی برگ‌ها تاول‌هایی دیده می‌شود که این تاول‌ها ممکن است کم یا زیاد، کوچک یا بزرگ باشند که بیشتر در نواحی نزدیک به رگبرگ میانی دیده می‌شوند. هر دو نوع این تاول‌ها ممکن است روی یک درخت باشند و یا اینکه بطور همزمان در مراحل مختلف آلودگی وجود داشته باشند. درختان جوان و حساس کولتیوار Bing که در تیر ماه پیوند جوانه شده‌اند معمولاً نشانه‌های واضح در سال جدید را نشان می‌دهند (Cropley, 1961).

مراحل رشد گیاه که مورد حمله قرار می‌گیرد: مرحله گلدهی، مرحله میوه‌دهی، مرحله نشاء و مرحله رشد رویشی گیاه.

اندام گیاهی مورد حمله: میوه/غلاف، برگ‌ها، تمام اندام‌های گیاهی

علائم ایجاد شده روی اندام گیاهی مورد حمله:

میوه/ غلاف: شکل غیر معمول.

برگ‌ها: شکل غیر معمول.

کل گیاه: مرگ گیاه، سرخشکیدگی و کوتولگی.

علائم حاصل از RpRSV در میزبان‌های طبیعی و آزمایشگاهی اغلب مشابه با نشانه‌هایی است که بوسیلهٔ دیگر نپوویروس‌ها ایجاد می‌شود. از نظر خصوصیات پیکره و اندازهٔ RNA-2، به نظر می‌رسد که این ویروس با دیگر ویروس‌هایی که در زیر گروه a نپوویروس‌ها قرار گرفته‌اند، مشابه است. لیکن RpRSV از نظر سرولوژیکی به هیچ یک از این ویروس‌ها مرتبط نمی‌باشد. ویروس Artichoke Aegean ringspot virus (AARSV) که قبلاً به عنوان یکی از سروتیپ‌های RpRSV شناخته شده بود در حال حاضر به عنوان یک ویروس مجزا شناخته می‌شود (Murant et al., 1996). جدایه‌های یونانی و ترکیه‌ای AARSV از نظر سرولوژیکی از یکدیگر قابل تشخیص هستند ولی این دو جدایه از نظر توالی اسید نوکلئیکی 73٪ تشابه دارند در صورتیکه همولوژی آنها با نژاد انگلیسی RpRSV تنها 7٪ است (Robinson and Clark, 1987).



علائم لکه حلقوی روی برگ



گیاه کاملاً آلوده



علائم لکه حلقوی روی برگ



علائم بصورت نواحی زرد و چروکیده روی برگ



علائم پیچیدگی برگ: پیچیدگی برگ شدید روی رقم Norfolk Giant تمشک آلوده به RpRSV.



علائم لکه حلقوی کلروتیک: لکه حلقوی کلروتیک در رقم Malling Jewel تمشک آلوده به RpRSV.



علائم در مزرعه: وقوع RpRSV و نیپوویروس لکه سیاه گوجه‌فرنگی (tomato black ring nepoviruses) در توت‌فرنگی





راههای انتقال و انتشار:

انتقال طبیعی RpRSV در فواصل زیاد بوسیله بذور آلوده‌ای که توسط حیوانات یا باد منتقل می‌شوند، صورت می‌گیرد. ولی در مسافت‌های کوتاه، ویروس توسط نماتدهای آلوده کننده از گیاهی به گیاه دیگر گسترش می‌یابد. در تجارت بین‌المللی بیماری می‌تواند از طریق نهال‌های تمشک، توت‌فرنگی و گیلاس یا اندام‌هایی مانند بذر انجام شود. همچنین RpRSV به احتمال زیاد می‌تواند در نماتدهای ناقل ویروس یا بذرهای آلوده موجود در خاک همراه با محموله گیاهی وجود داشته باشد. نماتدها در انتقالات بین‌المللی می‌توانند بقا یابند اما در صورتیکه خاک خشک شده باشد، قادر به ادامه زندگی نخواهند بود. انتقال توسط نماتدهای ناقل: *Longidorus elongatus*, *L. macrosoma*; از *Dorylamidae* ها. انتقال مکانیکی، بذر و دانه گرده.

گونه‌های میزبان حساس آزمایشگاهی و نشانه‌های بیماری

Chenopodium amaranticolor: لکه‌های موضعی سبزرده و یا بافت مرده؛ آلودگی بدون علائم
C. quinoa: لکه‌های موضعی سبزرده و یا بافت مرده؛ نکروز انتهایی و موزائیک خفیف عمومی
Nicotiana rustica: حلقه یا لکه‌های موضعی؛ نقوش خطی یا حلقوی سیستمیک ولی آلودگی سیستمیک غالباً بدون نشانه است.
Phaseolus vulgaris: لکه‌های موضعی بافت مرده (در زمستان) و لکه‌های موضعی سبزرده (در تابستان)؛ موزائیک خفیف عمومی؛ بدشکلی و بافت مردگی
Petunia × hybrida: لکه‌های موضعی سبزرده؛ کلروز سیستمیک؛ نقش خطی و نکروز

میزبان‌های تکثیری:

Nicotiana clevelandii, *N. rustica*, *Petunia × hybrida*.

میزبان‌های محک:

Chenopodium amaranticolor (L), *C. quinoa* (L/W), *Spinacia oleracea* (W, especially useful as a bait plant for vector transmission tests).

اقدامات قرنطینه‌ای:

ویروس RpRSV در فهرست آفات قرنطینه‌ای A2 سازمان حفظ نباتات اروپا (EPPO) قرار دارد این ویروس هم اکنون جزء بیماری‌های قرنطینه خارجی ایران محسوب می‌گردد. اگرچه RpRSV در حال حاضر در نواحی اروپایی نسبتاً پراکنده است، واردات و کاشت اندام‌های گیاهی آلوده می‌تواند موجب گسترش ویروس در نواحی غیر آلوده گردد. این ویروس برای بسیاری از کشورها از اهمیت قرنطینه‌ای برخوردار است. EPPO پیشنهاد می‌دهد که محموله‌های گیاهی تمشک که برای کاشت مورد استفاده قرار می‌گیرند، می‌بایست در انتهای فصل رشد از باغات عاری از ویروس RpRSV آورده شده باشد. فایده اندام‌های گیاهی گواهی شده این است که می‌تواند موجب افزایش اطمینان از عدم آلودگی ویروسی شود.

روشهای ردیابی و بازرسی:

علائم حاصل از تلقیح مکانیکی برگ گیاهان علفی محک با عصاره بافت آلوده، می‌تواند حاکی از حضور ویروس RpRSV باشد.

توتون (*Nicotiana tabacum*) رقم‌های Havana 524 و Haronova، با ایجاد حلقه‌های بافت مرده واکنش نشان می‌دهد در حالیکه آلودگی در جو سفید بصورت حلقه و یا لکه‌های موضعی سبزرده متفرق یا سیستمیک دیده می‌شود. در دو گونه *N. glutinosa* و *Chenopodium amaranticolor*، پس از تلقیح مصنوعی گیاه، لکه‌های موضعی سبزرده و یا بافت مرده تولید می‌کند. بطور کلی شناسایی RpRSV توسط دامنه میزبانی و یا شناسایی علائم غیر قابل اطمینان است. از این رو انجام آزمایشات سرولوژیکی برای تشخیص صحیح بیماری ضروری می‌باشد. روش‌های آزمایشگاهی در ویروس‌های قرنطینه تمشک RpRSV بطور خلاصه آورده شده است (OEPP/EPPO, 1991).

علائم ناشی از RprRSV در گیاهان قابل تشخیص نبوده و ممکن است با دیگر عوامل زنده و غیر زنده اشتباه شود. به علاوه بسیاری از گونه‌های گیاهی آلوده فاقد علائم مشخص هستند. تشخیص و شناسایی این ویروس به آزمایشات زیستی در گیاهان محک علفی و یا آزمون‌های سرولوژیکی بستگی دارد. ویروس RprRSV به راحتی از طریق مکانیکی منتقل می‌شود. لیکن باید توجه داشت که تلقیح مکانیکی از گیاهان چوبی می‌بایست در محلول نیکوتین 2٪ و یا در بسیار بالا صورت گیرد تا اثرات نامطلوب فنول‌های گیاهی که موجب غیر فعال شدن ویروس می‌شوند را کاهش دهد. به محض ظهور علائم در گیاهان علفی، ویروس به سهولت از طریق انتقال مکانیکی عصاره گرفته شده در بافر و یا آب، قابل انتقال است. در زمان تلقیح مکانیکی به گیاهان محک، بسیاری از جدایه‌های RprRSV بطور معمول نشانه‌های زیر را ایجاد می‌کنند:

Chenopodium amaranticolor: توسعه لکه‌های موضعی سبزرد یا بافت مرده هفت روز پس از تلقیح، علائم بصورت سیستمیک در نمی‌آید. این گونه یکی از میزبان‌های موضعی مفید است.

C. quinoa: توسعه لکه‌های موضعی سبزرد یا بافت مرده هفت روز پس از تلقیح، چند روز پس از آن ایجاد موزائیک خفیف سیستمیک، یا نکروز سیستمیک برای اکثر جدایه‌ها. این گونه یکی از میزبان‌های تکثیری مناسب محسوب می‌شود.

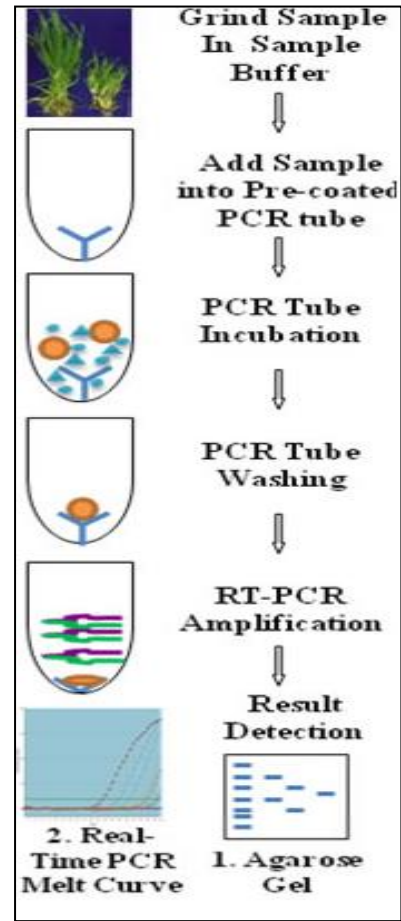
Cucumis sativus

Nicotiana glauca و *N. clevelandii*: هفت روز پس از تلقیح برخی جدایه‌ها، لکه‌های موضعی سبزرد یا بافت مرده و سپس موزائیک سیستمیک ایجاد می‌شود. در تعدادی از ارقام توتون، پس از آلوده سازی به زودی، حلقه‌های نکروز یا لکه حلقوی سیستمیک توسعه می‌یابند. اما برگ‌های تولیدشده بعدی بدون علائم خواهند بود ولی ویروس در بافت این برگ‌ها حضور دارد. هر دو گونه می‌توانند جزء میزبان‌های تکثیری مناسب محسوب شوند.

از آنجایی که این نشانه‌ها ممکن است مشابه با علائم ایجاد شده توسط نپوویروس‌های دیگر باشد، از این رو برای تشخیص روشن و بدون ابهام RprRSV، تنها باید از آزمون‌های سرولوژیکی استفاده نمود. از آنجا که بصورت چندین وارینه مختلف سرولوژیکی وجود دارد، می‌بایست آنتی‌سرمی را بکار برد که دامنه وسیعی از نژادهای RprRSV را شناسایی نماید. این ویروس به سهولت از طریق تست ELISA در میزبان‌های طبیعی قابل ردیابی می‌باشد و به همان خوبی می‌توان از کاوشگر-های بر پایه اسید نوکلئیک مانند PCR و immune-capture PCR استفاده نمود (Murant, 1987; Murant et al., 1996).



ردیابی بیماری با بررسی قلمه و نشاء گیاهان میزبان وارداتی



Analysis of the PCR results

No risk of contamination

Electrophoresis

High risk of recontamination

FLASH — qualitative analysis after termination of reaction

Real-Time PCR — detection of fluorescence during the amplification

Possibility of quantitative analysis.

تست های سرولوژی جهت ردیابی بیماری

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

<https://gd.eppo.int/taxon/RPRSV0/distribution>

<https://www.dreamstime.com/photos-images/raspberry-ringspot.html>

Bovey, R. *et al.* (1972). In: *La Défense des Plantes Cultivées* 6th Edition. Payot, Switzerland

Cadman, C.H. (1956). *J. Hort. Sci.* **31**: 111.

Cadman, C.H. (1960). *Virology* **11**: 653.

Cropley, R. (1961). *Ann. appl. Biol.* **49**: 530.

David Elstein, February 18, 2005, Strawberry Latent Ringspot Virus Found in North America

Greif, C., Hemmer, O. and Fritsch, C. (1988). *J. gen. Virol.* **69**: 1517.

Hanada, K. and Harrison, B.D. (1977). *Ann. appl. Biol.* **85**: 79.

Harrison, B.D. (1958). *Ann. appl. Biol.* **46**: 571.

Harrison, B.D. (1961). *Tijdschr. PlZiekt.* **67**: 562.

Harrison, B.D. (1964). *Virology* **22**: 544.

Kleinhempel, H. (1970). *Archiv. Gartenbau.* **18**: 267.

Lister, R.M. and Murant, A.F. (1967). *Ann. appl. Biol.* **59**: 49.

Maat, D.Z., van der Meer, F.A. and Pfaeltzer (1962). *Tijdschr. PlZiekt.* **68**: 120.

Mayo, M.A., Acosta, O., Blok, V.C., Wardell, I.M., Manoukian, A., Jolly, C.A. and Robinson, D.J. (1992). *Rep. Scottish Crop Res. Inst.* 1991, p. 84.

Murant, A.F. (1970). In: *Virus Diseases of Small Fruits and Grapevines*, pp. 132-148; ed. N.W. Frazier, University of California, Berkeley, California, U.S.A.

Murant, A.F. (1978). *CMI/AAB Descr. Pl. Viruses* No. 198, 5 pp.

Murant, A.F. (1981). In: *Handbook of Plant Virus Infections: Comparative Diagnosis*, pp. 197-238; ed. E. Kurstak, Elsevier/North Holland Press, Amsterdam.

Murant, A.F. and Taylor, M. (1978). *J. gen. Virol.* **41**: 53.

Murant, A.F. and Lister, R.M. (1967). *Ann. appl. Biol.* **59**: 63.

Murant, A.F., Taylor, C.E. and Chambers, J. (1968). *Ann. appl. Biol.* **61**: 175.

<http://www.helsinki.fi/ppvir/research/abrms/Zavriev.pdf>

<http://pnwhandbooks.org/plantdisease/raspberry-rubus-sp-ringspot>

http://www.eppo.int/QUARANTINE/virus/Raspberry_ringspot_virus/RPRSV0_ds.pdf