



جمهوری اسلامی ایران

وزارت جهاد کشاورزی

سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی

موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر

بخش تحقیقات باغبانی



بیماری خط سیاه گردو (CLR V)

نکروز کشنده بافت محل پیوند

تهیه و تدوین:

رعنا دستجردی، داراب حسنی، اصغر سلیمانی و

آفاق فرهادنژاد



جمهوری اسلامی ایران

وزارت جهاد کشاورزی

سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی

موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر

بخش تحقیقات باغبانی

بیماری خط سیاه گردو (CLR_V) نکروز کشنده بافت محل پیوند

تهیه و تدوین:

رعنا دستجردی، داراب حسنی، اصغر سلیمانی و

آفاق فرهادنژاد

بهار ۱۳۸۷

فهرست مطالب

صفحه	موضوع
۴.....	مقدمه.....
۵.....	گیاه شناسی.....
۶.....	مشخصات برخی از گونه های جنس <i>Juglans</i>
۸.....	تولید گردو در ایران و جهان.....
۱۱.....	تکثیر گردو.....
۱۱.....	معایب استفاده از نهال های بذری در باغ های گردو.....
۱۲.....	پیوند گردو.....
۱۴.....	بیماری خط سیاه گردو و تاثیر آن بر انتخاب پایه.....
۱۷.....	عامل بیماری خط سیاه گردو.....
۱۷.....	علائم و نشانه های بیماری.....
۲۱.....	چرخه بیماری و اپیدمیولوژی.....
۲۳.....	ردیابی ویروس قبل از انتقال به نهالستان ها.....
۲۴.....	راه های کنترل بیماری.....
۲۷.....	منابع مورد استفاده.....

گردو از میوه های خشک و آجیلی (مغزدار) می باشد که تاریخچه کشت و پرورش آن بسیار طولانی است (۲). منشاء طبیعی این گیاه مناطق کوهستانی آسیای مرکزی می باشد، هر چند اکثر دانشمندان، فلات ایران را منشاء طبیعی آن دانسته به همین دلیل آن را گردوی ایرانی نامیده اند. انواع وحشی یا بومی گونه های این گیاه در چین، ژاپن، هند، ایران، آمریکای شمالی، مرکزی و جنوبی در امتداد کوههای آند تا آرژانتین یافت می شود. اغلب بشر از زمان پیدایش این گونه، اقدام به تکثیر آن از طریق بذر نموده است و با این روش تنوع بسیار زیادی در گردو به وجود آمده است. هر چند از گذشته های دور باغداران به تفاوت های درختان حاصل از بذر پی برده بودند، اما از امکان تکثیر رویشی ارقام اطلاع چندانی نداشتند (۵).

در این مجموعه سعی شده است ضمن مروری کوتاه بر گونه ها و هیبریدهای مهم گردو و بیان روش های تکثیر پیوندی آن، توجه علاقه مندان را به اهمیت بیماری ویروسی خط سیاه گردو جلب نموده در پایان راهکارهای پیشگیری و کنترل بیماری ارائه شده است.

گیاه شناسی

گردو متعلق به خانواده *Juglandaceae* و جنس *Juglans* می باشد. این جنس دارای بیست

و یک گونه بوده که در سه گروه به صورت زیر قابل طبقه بندی هستند:

۱. گردوهای سفید شامل گونه های زیر :

J. cinerea •

J. cathayensis •

J. mandshurica •

J. stenocarpa •

J. sieboldiana •

J. cardiformi •

۲. گردوهای سیاه شامل :

J. rupestris •

J. californica •

J. major •

J. hindsii •

J. nigra •

۳. گردوهای معمولی شامل گونه *J. regia* (۶).

گردوی ایرانی با نام *J. regia* یکی از مهم ترین میوه های خشکباری است که امروزه به طور

گسترده ای در سراسر جهان پراکنده و کشت و کار شده است (۲۰).

گردو درختی است یک پایه که گل آذین نر آن به صورت شاتون های آویخته در روی چوب

سال قبل ظاهر می شوند. در بین این شاتونها، اثری از مادگی تحلیل رفته نیز دیده می شود. شاتونها

به صورت جانبی تشکیل شده، متشکل از گل های فراوانی می باشند که می توانند تا ۴ میلیون دانه

گرده را تولید نمایند. گل های ماده به صورت دوتائی، سه تائی و یا خوشه ای در انتهای ساقه همان

سال و بر روی سیخک های جانبی تشکیل می شوند. گلهای ماده دگر گشن بوده، توسط باد گرده افشانی می شوند (۷،۲).

مشخصات برخی از گونه های جنس *Juglans*

همان گونه که اشاره شد چندین گونه و هیبرید های بین گونه ای از این جنس در آمریکا، فرانسه و اغلب مناطق گردو خیز جهان وجود دارد که از لحاظ پایه و تولید میوه مورد توجه قرار گرفته اند (۶،۲). در این جا به برخی از ویژگی های مهم این گونه ها برای استفاده به عنوان پایه اشاره می شود:

- *J. major*: این گونه مقاوم به خشکی و دارای ریشه های قوی و نفوذی بوده، از این رو برای زمین های سنگلاخی بسیار مناسب می باشد. سازگاری آن با گردو های معمولی مثل گردوی سیاه به اثبات رسیده است (۶). این گونه برای کاشت در خاک هائی با pH بالا توصیه می شود (۵،۲).
- *J. cinerea*: در حالت وحشی به باتر نات^۱ معروف است. مهم ترین ویژگی آن مقاومت زیاد آن در برابر سرما است که به مراتب بیشتر از *J. regia* است (۶). این گونه به خفگی ریشه و کلروز بسیار حساس است (۶).
- *J. hindsii*: جوش خوردن محل پیوند در این گونه خوب است. از مقاومت مطلوبی در برابر قارچ مولد پوسیدگی عسلی (*Armillaria spp.*)، باکتری عامل گال طوقه و نماتد مولد غده ریشه برخوردار است (۵،۲)؛ ولی به قارچ فیتوفترا (عامل پوسیدگی طوقه و ریشه)، نماتد مولد زخم، بیماری آنتراکنوز و ویروس عامل بیماری خط سیاه حساس می باشد (۶،۴،۲،۵).

¹ -Butter Nut

از آن جایی که برگ های آن از اول تابستان روی تاج درخت شروع به ریزش می کنند، این گونه نمی تواند پایه ای مطلوب برای پیوند باشد (۴). درضمن به خاک های سنگین، آب گرفتگی، کمبود فسفر و روی و همچنین میزان بالای آهک خاک متحمل نیست (۵،۲).

- ***J. nigra***: این پایه به نماتد ها، قارچ فیتوفترا، آرمیلاریا (*Armillaria*)، گال طوقه و قارچ ریشه بلوط مقاوم می باشد، ولی به بیماری خط سیاه بسیار حساس است. به همین دلیل استفاده از آن فقط در مناطقی که خطر سرایت و آلودگی بیماری خط سیاه صفر باشد توصیه شده است (۵، ۴، ۲، ۶). بعلاوه این پایه به کلروز ناشی از کمبود آهن (خاک های آهکی) حساسیت دارد (۵،۲).

- ***J. sieboldiana***: این پایه نسبت به سرما (تا -30°C) و قارچ فیتوفترا مقاوم است و با خاک های مختلف و شرایط آب و هوایی متفاوت سازگار می باشد (۷،۲). از سرمای دیر رس بهاره آسیب دیده، در برابر خاک های رسی و شور حساسیت نشان می دهد.

- ***J. californica***: آزمایش های پایه روی این گونه کمتر انجام شده اند (۶،۵). به رطوبت زیاد خاک حساس بوده استقرار آن در خاک ضعیف می باشد. کاربرد این پایه به دلیل حساسیت آن در برابر پوسیدگی یقه و ریشه توصیه نمی شود (۶).

- ***J. microcarpa***: به عنوان یک پایه پا کوتاه مورد استفاده قرار گرفته است (۵). در برابر pH بالای خاک، مقادیر زیاد کلر و بر خاک از مقاومت بیشتری نسبت به پایه های *J. nigra* و *J. regia* برخوردار می باشد (۵،۲).

- ***(J. hindsii × J. regia) Paradox***: برای جابجایی نهال ها مناسب است. به رطوبت زیاد خاک و قارچهای عامل پوسیدگی ریشه مقاوم تر از گردو های سیاه می باشد. انواع نماتد های ریشه خسارت چندانی به این پایه وارد نمی کنند (۶،۲). به هرحال مقاومت آن در

برابر گونه های قارچ فیتوفترا مطلوب است (۲). اما پایه های بذری پارادوکس به باکتری عامل سرطان طوقه و ویروس مولد بیماری خط سیاه گردو بسیار حساس می باشند (۶،۲).

• *J. regia*: این پایه به شرایط نامناسب خاک از نظر عدم تهویه و کلروز ناشی از کمبود و فقر آهن حساس است. تحمل اندکی به شوری دارد. ولی در مقایسه با گردوی سیاه از مقاومت بالاتری در برابر خشکی برخوردار می باشد (۶). این گونه نیز مقاومت خوبی را به بیماری خط سیاه نشان داده است (۶،۵،۴،۲). اگر چه این پایه تنها پایه مقاوم به ویروس مذکور می باشد، اما به نظر می رسد که $CLR\bar{V}^2$ بر قدرت رشد و نمو درخت و میزان بار دهی آن تاثیر منفی خواهد گذاشت (۴). مقاومت *J. regia* به سرما کمتر از گردوی سیاه می باشد (۶). *J. regia* به فیتوفترا، عامل پوسیدگی سفید ریشه، باکتری عامل گال طوقه و به نماتد ها حساس است (۶،۲). همچنین در خاک هائی که سطح آب های زیر زمینی بالا است و یا در خاک های شور استفاده از این پایه مناسب نمی باشد (۲).

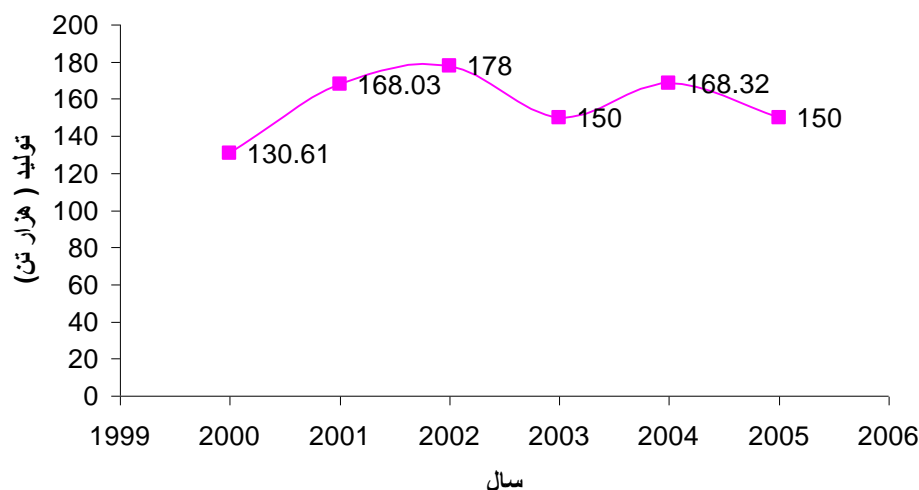
تولید گردو در ایران و جهان

رویشگاه این گیاه از نظر طول و عرض جغرافیایی و ارتفاع از سطح دریا بسیار گسترده است (۷). در ایران گردو در عرض های جغرافیای ۲۹-۳۹ درجه شمالی و طول جغرافیایی ۴۵-۶۴ درجه شرقی، از زمین های کم ارتفاع مثلا در استان مازندران در مناطقی با ارتفاع ۲۶ متر از سطح دریا تا مناطقی با ارتفاع ۲۵۰۰ متر مثل ارتفاعات مناطق کوهستانی استان چهار محال بختیاری به صورت اهلی یا وحشی رشد می کند. باغ های گردوی کشور به میزان وسیعی در دامنه رشته کوه های البرز و زاگرس یافت می شوند (۷،۸).

²-cherry leaf roll virus

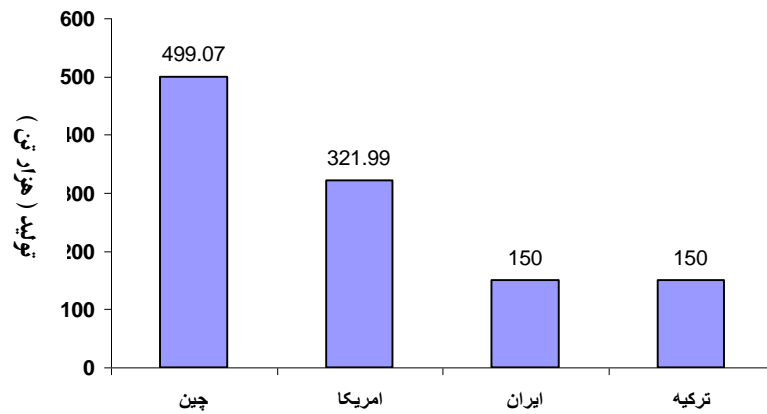
بر اساس آمار سازمان خواروبار و کشاورزی (F.A.O)، میزان کل تولید گردوی جهان در سال ۲۰۰۵ میلادی ۱۶۰۱ هزارتن بوده است که در این میان کشورهای چین (۴۹۹ هزار تن)، آمریکا (۳۲۱۹۹۰ تن)، ایران (۱۵۰ هزار تن) و ترکیه (۱۵۰ هزار تن) مهم ترین کشورهای تولید کننده گردو در جهان معرفی شده اند. نمودار ۱ میزان تولید ایران را بین سال های ۲۰۰۰ تا ۲۰۰۵ نشان می دهد.

نمودار ۱- میزان تولید گردو در ایران بین سال های ۲۰۰۰ تا ۲۰۰۵ (F.A.O)



سازمان فائو سطح زیر کشت گردو در ایران را در سال ۲۰۰۵ حدود ۶۵ هزار هکتار گزارش کرده است. هر چند از این سطح زیر کشت، میزان ۱۵۰ هزار تن گردو برداشت شده و کشورهای ایران و ترکیه مقام سوم را در بین کشورهای عمده تولید کننده گردو به خود اختصاص داده اند (نمودار ۲)، اما متأسفانه به علت مشخص نبودن ارقام و عدم یکنواختی محصول تولیدی در کشورما، نامی از ایران در بین کشورهای عمده صادر کننده دیده نمی شود (۷).

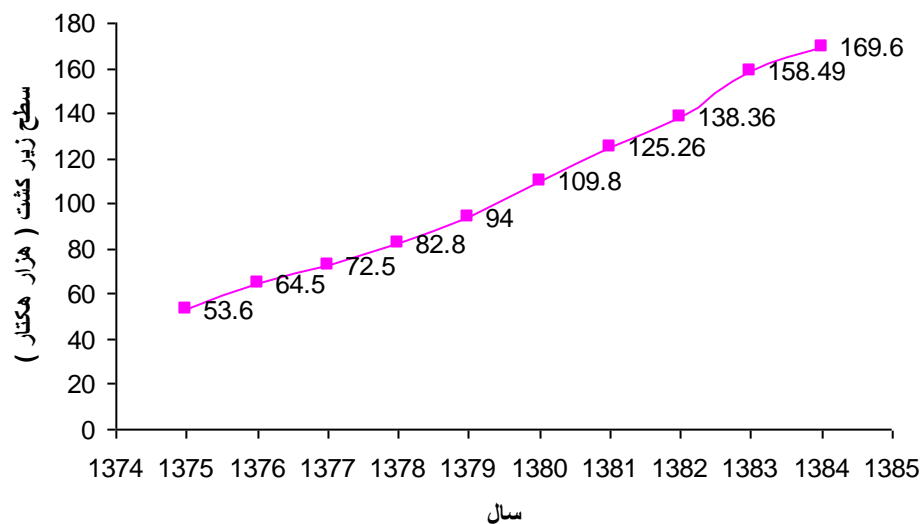
نمودار ۲- جایگاه ایران در بین کشورهای عمده تولید کننده گردو (F.A.O)



نمودار ۳ میزان تغییرات سطح زیر کشت گردوی کشور را در طی سالهای ۱۳۷۶-۱۳۸۴ نشان

می دهد.

نمودار ۳- سطح زیر کشت گردو در ایران بین سال های ۱۳۷۶ تا ۱۳۸۴ (آمار نامه کشاورزی)



تکثیر گردو

گردو نیز مانند سایر درختان میوه به دو روش جنسی و غیرجنسی تکثیر می شود. تکثیر جنسی گردو به معنی استفاده از بذر برای ازدیاد می باشد. بذر گردو در گذشته به طور گسترده ای برای تکثیر درختان گردو مورد استفاده قرار گرفته است. علی رغم سادگی کاربرد این روش، تکثیر گردو از طریق بذر، معایبی دربرداشته که سبب شده است استفاده از نهال های بذری برای تولید درختان بارده گردو محدود شود. به این ترتیب در حال حاضر تکثیر بذری گردو فقط برای تولید پایه توصیه می شود.

معایب استفاده از نهال های بذری در باغ های گردو

- تفرق صفات رویشی و زایشی، به خاطر هتروزیگوس بودن درختان گردو
 - طولانی بودن دوره نونهالی درختان به دست آمده از بذر (۸-۱۰ سال زمان برای گل دهی چنین درختانی لازم است)
 - تنوع بسیار زیاد بین درختان در صفات مختلف، که ایجاد باغ های یکنواخت و یک دست را از این طریق غیر ممکن می سازد.
 - عملکرد و کیفیت پایین میوه و مغز در باغ های گردوی بذری (۸) به طوری که متوسط مغز آنها فقط ۳۰-۳۵ درصد است؛ در حالی که در ارقام خوب تجارتي متوسط درصد مغز ۵۰-۶۰ درصد می باشد (۲).
- مجموعه این عوامل باعث شده اند میوه های تولیدی درختان بذری، استاندارد نبوده ارزش صادراتی نداشته باشند (۲). بذری بودن اکثر باغ های گردوی کشور، امکان تولید محصول یکنواخت، یک شکل و استاندارد را، که لازمه رقابت در بازار های جهانی می باشد، غیر ممکن کرده است.

بنابراین برای اینکه بتوان محصول مناسب و با توان رقابتی بالا تولید کرد باید گردو را مثل سایر درختان میوه به طریق رویشی تکثیر نمود.

در این میان روش های تکثیر رویشی متعددی برای گردو مورد استفاده قرار گرفته که در بین آنها برخی از روش ها موفقیت های نسبی در برداشته اند. از جمله این روش ها می توان به روش های خوابانیدن، کشت بافت، نا آمیزیدن، قلمه و پیوند اشاره کرد (۱۲).

پیوند گردو

مشکلات فراوانی که در رابطه با سایر روش های تکثیر رویشی گردو اعم از قلمه، خوابانیدن و کشت بافت گزارش شده مانع استفاده از آنها در سطح تجاری شده است (۸، ۳، ۲، ۷، ۱۲). لذا در حال حاضر سایر روش های تکثیر رویشی گردو به جز پیوند، استفاده کاربردی زیادی در بین تولید کنندگان این محصول ندارند. هر چند که میزان گیرایی و زنده ماندن نهال های پیوندی رضایت بخش نمی باشد (۱۲)، ولی در حال حاضر پیوند بهترین روش تکثیر رویشی گردو محسوب می شود. این روش برای بیش از ۱۰۰ سال است که در باغ های گردوی آمریکا متداول شده است. از اوایل قرن بیستم، با مشخص شدن مزایای پیوند و نهال های پیوندی، استفاده از نهال های بذری برای کاشت باغ های گردو در آمریکا کنار گذاشته شده است (۳، ۷).

در ایران اولین بار در سال ۱۳۶۱ پیوند گردو توسط دهلوی در دانشکده کشاورزی اصفهان با موفقیت اجرا شد (۷).

از مزایای درختان پیوندی می توان به موارد ذیل اشاره نمود:

۱. سن باردهی درختان از ۱۰-۸ سال در نهال های بذری به ۳-۲ سال در نهال پیوندی تقلیل می یابد.
۲. استفاده از ویژگی های گیاهان مادری که دارای صفات مطلوب می باشند.

۳. تکثیر تعداد زیادی از نهال های یکنواخت و ارقام مناسب در شرایط یکسان

۴. امکان ایجاد باغ های یکدست و مدیریت آسان و اقتصادی این باغ ها

۵. تولید محصولات همگن و افزایش توان رقابتی محصولات تولیدی کشور در بازارهای

جهانی

۶. حفظ واستفاده از جهش ها یی که در گیاهان اتفاق می افتند.

۷. رفع برخی از محدودیت های مربوط به گرده افشانی از طریق پیوند ارقامی که گل های نر

آن به طور هم زمان با گل های ماده رقم مورد نظر باز می شوند (به دلیل دیکو گام بودن

گردو گل های نر و ماده آن معمولا هم زمان باز نمی شوند، گرچه ارقامی وجود دارند که

همزمانی گلدهی دارند).

۸. کنترل برخی از آفات و بیماری ها از طریق پیوند ارقام حساس بر روی پایه های مقاوم

اگر چه با پیشرفت علم و تکنولوژی پیوند، تکثیر گیاهان از طریق رویشی برای استفاده از

خصوصیات ارقام برتر گسترش یافته است؛ اما گسترش تکثیر از طریق پیوند گاه مشکلاتی را نیز به

همراه داشته است. در خصوص تکثیر رویشی گردو از طریق پیوند می توان به مشکل گسترش

بیماری خط سیاه ناشی از ویروس **CLR**V اشاره نمود. از این رو لازم است برای بقای این نوع

روش های ازدیادی درختان میوه، با شناخت هر چه بیشتر عامل بیماری و نیز آگاهی یافتن از

راههای انتقال و در نهایت کنترل بیماری برمشکلات مذکور غلبه کرد.

بیماری خط سیاه^۳ گردو و تاثیر آن بر انتخاب پایه

بیماری خط سیاه گردو یک بیماری ویروسی در گردوی ایرانی (*J. regia*) است که اولین بار در سال ۱۹۲۴ در ایالت اورگون امریکا مشاهده شد (۱۶). این بیماری هم اکنون از کشورهای بلغارستان، انگلستان، فرانسه، مجارستان، ایتالیا، رومانی، اسپانیا و ایالت کالیفرنیا در آمریکا گزارش شده است. بیماری علاوه بر محدود کردن تولید گردو، تهدید بالقوه ای برای سایر درختان نیز می باشد. ویروس عامل بیماری خط سیاه نه تنها درختان ۷۰-۵ ساله، بلکه گاهی درختان جوانتر را نیز مورد حمله قرار می دهد. این بیماری در ارقام گردوی ایرانی پیوند شده روی چند گونه *Juglans* (غیر از *J. regia*) از جمله پایه های گردوی سیاه شمال کالیفرنیا، هیبریدهای پارادکس و رویال و یا برخی توده های گردوی ایرانی نیز گزارش شده است (۱۸).

تحقیقات نشان داده است که ویروس عامل خط سیاه در گردو به شکل غیر مستقیم برای پایه ایجاد مشکل می کند. در حقیقت حضور ویروس در پیوندک آلوده، سبب وقوع ناسازگاری یا عدم تطابق پایه و پیوند می شود. پایه های درختان آلوده اغلب عاری از ویروس باقی می مانند. بیماری زمانی به صورت حادتر نمایان می شود که گردو روی پایه هائی به غیر از *J. regia* مانند (*J. nigra*، *J. major*، *J. hindsii*، *J. cinerea* و *J. sieboldiana*) پیوند شده باشد. پایه های مذکور نسبت به این ویروس حساس بوده، بلافاصله پس از آلودگی، نکروز کشنده بافت در محل پیوند ظاهر می شود. نوار سیاه رنگ ناشی از بیماری، در زیر پوست درخت و مماس با چوب به طور افقی دور محور پیوندی می چرخد و به محض کامل شدن لایه نکروزه، درخت در هر سنی که باشد خشک می شود (۴ و ۵).

³ -Black Line

اولین باغ‌های گردو در کالیفرنیا با استفاده از پایه های گردوی سیاه شمال کالیفرنیا و نهال های گردوی ایرانی کاشته شدند، اما در دهه ۱۹۵۰ پس از معرفی هیبرید پارادکس به عنوان پایه انتخابی برای باغ های گردوی کالیفرنیا، این پایه خیلی زود جانشین گردوی سیاه شمال کالیفرنیا و گردوی ایرانی شد. درختان با پایه پارادکس در مقایسه با درختانی که روی پایه گردوی ایرانی یا گردوی سیاه شمال کالیفرنیا پیوند شده بودند، بهتر رشد نموده، قویتر بوده و تولید بیشتری داشتند؛ همچنین مقاومت آنها به فیتوفترا و نماتد (که از مشکلات عمده باغ های کالیفرنیا هستند) چشمگیر بود. به این ترتیب به دلیل حساسیت پایه های گردوی ایرانی در برابر شوری و بیمارگرهای خاکزاد و همچنین عملکرد نسبتاً پائین این پایه، استفاده از آنها فقط در برخی مناطق خاص از ایالت کالیفرنیا انجام گرفت (۹). اما علاقه مجدد باغداران کالیفرنیا به استفاده از گردوی ایرانی به عنوان پایه، نتیجه تحقیقات دهه ۱۹۷۰ است که بیماری خط سیاه در بسیاری از مناطق تولید کالیفرنیا همه گیر شد. بیماری، بافت گیاه را در محل پیوند (در درختانی که روی پایه های پارادکس و گردوی سیاه شمال کالیفرنیا رشد می کردند) از بین می برد؛ اما ویروس بر درختانی که روی پایه گردوی ایرانی رشد کرده بودند، تاثیری نداشت. مطالعات نشان داده اند که پایه های گردوی سیاه کالیفرنیا و پارادکس مقاوم به CLRV می باشند. بیان مقاومت در این پایه ها به وسیله مرگ سلولهای مورد حمله در محل پیوند و سپس نکروز بافت مشاهده می گردد. حرکت ویروس از شاخه های آلوده در تاج درخت به سلولهای کامبیوم آوندی پایه و بروز واکنش مقاومت در گیاه نهایتاً سبب ایجاد یک لایه خشک در محل پیوند شده، مرگ درختان گردوی سیاه و درختانی با منشأ پارادکس را به دنبال خواهد داشت (۹).

در پایه های *J. regia* علائم آلودگی به ویروس CLRV به صورت نکروز و قطع ارتباط آوندی پایه مشاهده نشده است. از این رو پایه مذکور به طور طبیعی متحمل به CLRV گزارش شده

است. اما قطعاً حضور ویروس بر قدرت رشد و نمو درخت و میزان باردهی آن اثر منفی خواهد گذاشت. همچنین درختان بیمار بدون علامت^۴، خطر جدی برای درختان سالم به حساب می‌آیند. بنابر این تعیین دامنه گسترش بیماری بدون مطالعات کنترل شده امکان‌پذیر نبوده یا بسیار مشکل است (۴ و ۵).

بر اساس گزارش‌های موجود تمام ارقام گردوی ایرانی حساس به CLRV بوده، اغلب آنها آلوده می‌باشند (۹)؛ اما از آن جایی که علائم شدیدی را نشان نمی‌دهند، متحمل معرفی می‌شوند. سایر گونه‌های گردو، فوق حساس^۵ گزارش شده‌اند. بر این اساس در صورتی که *J. regia* روی سایر گونه‌ها پیوند شود، ایجاد خط سیاه ناشی از نکروز سبب قطع ارتباط آوندی و خشک شدن تاج درخت می‌گردد (۴، ۵، ۹).

امروزه در برنامه‌های اصلاح ارقام، مقاومت به بیماریها از بالاترین اولویتهای تحقیقاتی محسوب می‌شود. در خصوص ویروس CLRV نیز برنامه‌های اصلاحی در راستای تولید ارقام فوق حساس آغاز شده است. در این برنامه‌ها انتقال ژن فوق حساسیت از گردوی سیاه شمال کالیفرنیا به گردوی ایرانی با موفقیت انجام گرفته است (۱۵).

⁴ - Symptomless

⁵ - Hypersensitive

عامل بیماری خط سیاه گردو

عامل بیماری خط سیاه گردو، یک سویه از ویروس پیچیدگی برگ گیلاس⁶ به نام CLR-V-W می‌باشد. این ویروس از گروه نیپوویروسها⁷ و از خانواده کوموویریده⁸ بوده، دارای RNA تک رشته‌ای با ژنوم منقسم و ذرات ویروس ایزومتریک می‌باشند(۱). در گیاه آلوده پیکره ویروس در برآمدگیهای موجود در دیواره سلولهای پارانشیم آوندی، در سیتوپلاسم سلولهای پارانشیمی وهمچنین در عناصر آوند آبکشی مشاهده می‌شود. پراکنش ویروس در درختان آلوده نامنظم و غیر یکنواخت است(۱۸).

CLR-V اغلب از درختان زبان گنجشک، غان، گیلاس و گردو گزارش شده است (۱۰). هر چند این ویروس در چندین گیاه علفی از جمله در ریواس (*Rheum rhabarbarum*) یافت شده، اما مبدا اولیه ویروس هنوز ناشناخته باقی مانده است (۱۱).

علائم و نشانه‌های بیماری

زوال تدریجی و ضعف عمومی درختان آلوده از نشانه‌های اولیه بیماری است. زوال غالباً به صورت کاهش رشد انتهائی شاخه، زردی و ریزش قبل از موقع برگها بخصوص در شاخه‌های بالاتر و سپس سر خشکیدگی⁹ شاخه‌های انتهائی و در نهایت مرگ درختان آلوده نمایان می‌شود. گاه ایجاد پاجوش فراوان با علائم ویروس همراه می‌گردد. در محل پیوند سوراخ‌های کوچک یا شکاف‌های عمودی در پوسته درختان ظهور یافته، بالاخره کامبیوم و بافت آوند آبکشی زیر پوست در محل اتصال پایه و پیوندک از بین می‌رود (۱۸ و ۵).

⁶ -Cherry Leaf Roll Virus

⁷ -Nematod Transmitted Polyhydral Viruses (Nepoviruses)

⁸ -Comoviridae

⁹ -Die-back

ویروس پیچیدگی برگ گیلاس علاوه بر گردو، سایر درختان مثمر یا غیرمثمر را نیز مورد حمله قرار می دهد. هر چند محققین نشان داده اند که CLRV جدا شده از گیلاس نمی تواند از راه پیوند به گردوی ایرانی پیوند شده بر روی پایه *J. hindsii* منتقل شود، اما برخی علائم عمومی و مشترک بیماری در درختان میزبان ویروس مشاهده شده است. این علائم در درختان زبان گنجشک، غان، گیلاس و گردو شامل تاخیر در گل دهی و رشد برگها، بروز لکه های کلروتیک نواری کشیده یا لکه های حلقوی کلروتیک بر روی برگ، کاهش اندازه میوه ها، تاخیر در رسیدگی میوه، پیری زودرس و ریزش برگها حد اقل ۲-۳ هفته قبل از موقع و در نهایت سرخشکیدگی شاخه یا کل درخت می باشد (اشکال ۱ و ۲) (۱۸،۱۰).



شکل ۱- علائم ویروس CLRV در درختان گیلاس



شکل ۲- بروز سرخشکیدگی و زوال تدریجی درختان گیلاس (راست) و گردو (چپ) در اثر آلودگی به ویروس پیچیدگی برگ گیلاس

ارقام تجارتي گردوی ایرانی تحت تاثیر آلودگی سیستمیک ویروس قرار دارند. در گردوی ایرانی پیوند شده روی پایه گردوی سیاه، بافتهای مرده به صورت نوار باریک و تیره رنگی در محل پیوند دیده می شوند؛ اما در پایه های پارادکس و گردوی سیاه کالیفرنیا، آلودگی سیستمیک ویروس اتفاق نمی افتد. بنابر این پس از ورود ویروس به پایه (از طریق پیوندک آلوده) و بروز یک واکنش فوق حساسیت، لایه نازکی از سلولهای پایه نابود می شود و اغلب مرگ بافت به سمت پائین گسترش می یابد. به این ترتیب اگر پوست درختان در پایه های آلوده گردوی سیاه را کنار بزنیم خط سیاه رنگ باریک یا نواری از بافت مرده در محل پیوند دیده خواهد شد (شکل ۳). در مراحل اولیه توسعه بیماری، نوار سیاه رنگ بر روی پوست درخت دیده نمی شود؛ اما به تدریج این خط سیاه رنگ ناشی از بیماری، دور تا دور تنه را فرا گرفته درخت می میرد (۱۸ و ۵).



شکل ۳- نواری از بافت مرده در محل پیوند در درختان گردوی آلوده به CLRV

در پایه پارادکس نوار سیاه رنگ ناشی از بیماری، شانکرهای گسترده‌ای را در زیر محل

پیوند تولید می‌نماید که سبب مرگ درخت می‌شود (شکل ۴) (۵ و ۱۸).



شکل ۴- گسترش بیماری خط سیاه بصورت ایجاد شانکر در درختان گردو با پایه پارادکس

همانگونه که قبلاً اشاره شد نشانه های بیماری به ندرت در درختان گردوی ایرانی پیوندی

روی پایه گردوی ایرانی مشاهده می شود، به طوری که این ترکیب پایه - پیوندک با موفقیت در

مناطق به کار برده شده است که بیماری به فراوانی گسترش یافته است. هر چند که چنین درختانی

به دلیل پنهان بودن ویروس در آنها، تهدیدی جدی برای باغ های گردو محسوب می شوند (۴، ۵).

در بلغارستان، انگلستان، مجارستان و ایتالیا نشانه های برگ های مختلفی در نهال های گردوی ایرانی و یا ارقام پیوندی روی پایه های *J. nigra* و *J. hindsii*, *J. regia* مشاهده شده است. این علائم شامل: لکه های سبز- زرد رنگ، لکه های حلقوی و نوارهای زرد رنگ که گاه با لکه های بافت مرده قرمز آجری نیز همراه می باشند. در مجارستان بیماری با کاهش محصول، بد شکلی میوه، بافت مردگی مغز و در فرانسه با زوال رقم Marbot گردوی ایرانی همراه بوده است که روی برخی از پایه های گردوی ایرانی پیوند خورده بودند (۱۸،۷).

چرخه بیماری و اپیدمیولوژی

ویروس پیچیدگی برگ گیلان (CLR) عمدتاً از طریق پراکنده شدن دانه گرده آلوده به گل‌های ماده در درختان سالم منتقل می شود. این موضوع عامل تشدید کننده آلودگی و محدودیت استفاده از سایر گونه ها می باشد. در باغ های تجاری بیشتر آلودگی های جدید، نزدیک درختانی است که از قبل آلوده بوده اند. درختان گردوی ایرانی که آلوده به بیماری اند، اما علائم بیماری را نشان نمی دهند، بذور آلوده ای تولید می کنند که حامل ویروس بوده و مولد درختان بیمار می باشند. انتقال مکانیکی ویروس از طریق پیوند جوانه (Budwood) و پیوند اسکنه (Graftwood) نیز امکان پذیر می باشد (۱۸،۱۳،۴).

نشانه های شانکر و خط سیاه در واقع یک نوع واکنش فوق حساسیت در گونه های گردوست که به عنوان پایه مورد استفاده قرار گرفته اند. این نشانه ها زمانی تولید می شوند که ویروس به محل اتصال پایه و پیوند رسیده باشد. حرکت عمودی ویروس ۸۲-۵ سانتی متر و انتشار جانبی آن ۱۳-۵ سانتی متر در سال است. این موضوع بستگی به رقم، شرایط اقلیمی و وضعیت فیزیولوژیکی درخت دارد (۱۸،۴).

ویروس CLRV به طور سیستمیک فقط در پیوندهای گردوی ایرانی حرکت می‌کند و گونه‌هائی از *J. regia* که به عنوان پایه مورد استفاده قرار می‌گیرند، متحمل به ویروس هستند. پیشرفت بیماری در ارقام با عادت باردهی جانبی که سریعتر وارد مرحله باردهی گردیده محصول زیادی را در مراحل اولیه رشد تولید می‌کنند، بسیار سریعتر است از ارقام با عادت باردهی انتهائی که دیر وارد مرحله باردهی می‌شوند. در چنین درختانی به دلیل حجم و قدرت کم درخت، سرعت حرکت ویروس در شاخه‌ها و در محل پیوند سریعتر است و درختان اغلب در ۵-۴ سالگی از بین می‌روند؛ اما در ارقامی با عادت باردهی انتهائی مثل فرانکت که میوه‌ها در نوک شاخه تولید می‌شوند، به سبب تاخیر این گونه ارقام در وارد شدن به مرحله باردهی، آلودگی به CLRV نیز آهسته تر رخ می‌دهد. در این رقم حرکت ویروس از نقطه مبدا، حد اکثر ۴۰ سانتی متر در سال است و تا اتمام چرخش حلقوی ویروس در امتداد خط سیاه، چندین سال زمان لازم است (۴ و ۱۸).

ردیابی ویروس قبل از انتقال به نهالستان‌ها

متاسفانه ردیابی نیپوویروس‌ها در درختان میوه آسان نیست؛ زیرا در اغلب موارد غلظت

ویروس در بافت‌های گیاهی بسیار پائین است (۱۴).

روش شناسائی متداول این ویروس، مایه‌زنی گردهای ایرانی سالم بر روی پایه‌های گردوی

سیاه یا پارادوکس از طریق پیوند و نیز تلقیح مکانیکی میزبان‌های علفی مثل خیار، سلمه تره، لوبیا و

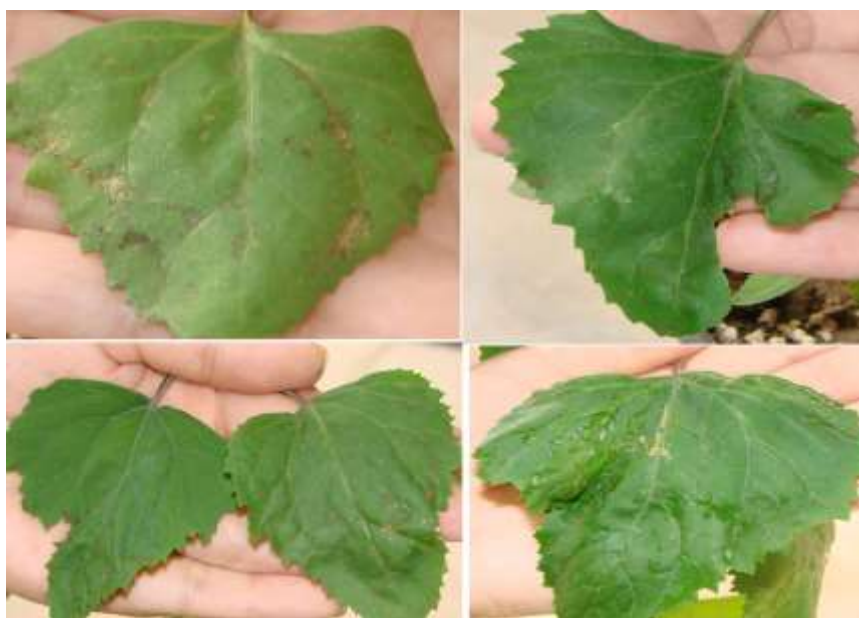
توتون است (۱۸). انتقال بیولوژیکی ویروس به میزبان‌های علفی *Chenopodium quinoa* و

Chenopodium amaranticolor در طی فصول بهار و پائیز امکان‌پذیر می‌باشد. این گیاهان

حضور ویروس را ۱۰-۱۴ روز پس از مایه‌زنی، با ظهور لکه‌های موضعی و علائم سیستمیک نشان

می‌دهند. عکس‌العمل سیستمیک گیاهان مذکور در برابر ویروس به صورت رنگ پریدگی، روشن

شدن رگبرگ‌ها، بدشکلی، کوتولگی و نکروز انتهائی بوته نمایان می‌شود (۱۴).



شکل ۵- علائم شبه ویروس پیچیدگی برگ گیلاس پس از مایه‌زنی بر روی میزبان علفی

Chenopodium quinoa (عکس از مولفین)

آزمون سرولوژیکی الایزا (DAS- ELISA) ، نیز یک روش قابل اطمینان برای تشخیص آلودگی اولیه در برگ، گل آذین نر، گل، میوه، دانه گرده ، بافتهای پوست داخلی و کامبیوم بالای محل پیوند در گردو است (۱۴،۱۸).

واکنش زنجیره ای پلیمرانز^{۱۰} (PCR) همراه با آنزیم ترانس کریپتاز و کاربرد آغازگرهای اختصاصی نیز برای تشخیص ویروس خط سیاه گردو به کار برده شده‌اند (۱۸).

راه‌های کنترل بیماری

متاسفانه تاکنون روش درمانی مناسبی برای اغلب بیماری‌های ویروسی در گیاهان از جمله بیماری خط سیاه گردو یافت نشده است؛ اما در راستای مدیریت تلفیقی بیماری‌ها در باغ‌های میوه، اقدامات زیر می‌تواند خزانه کاران و باغداران گردو را در پیشگیری و کنترل بیماری خط سیاه یاری نماید:

۱. انتخاب پیوندک‌های عاری از جوانه‌های شاتون دار و پیوند آنها بر روی پایه‌های با حساسیت زیاد در برابر ویروس CLRV. چنین پایه‌های باعث عدم گیرائی پیوند می‌شوند. در مناطقی مثل کالیفرنیا، که پایه‌های پارادوکس و *J. hindsii* پایه‌های متداول می‌باشند، این احتیاط خود به خود رعایت شده است؛ اما در مناطقی مثل چین و ایران که بیماری هنوز گزارش نشده است باید تمام پیوندک‌های مورد استفاده روی پایه‌های فوق‌العاده حساس پیوند شوند.
۲. ارقام پیوندی جدید باید به گونه‌ای انتخاب شوند که باز شدن گل‌های ماده آنها همزمان با آزاد شدن و پراکنش دانه گرده در ارقام آلوده مجاور نباشد.
۳. کاربرد دانه گرده سالم در باغ‌هایی که گرده افشانی مصنوعی دارند.
۴. رعایت فاصله کاشت جهت کاهش احتمال انتقال دانه گرده از طریق باد یا حشرات.

¹⁰ - Polymerase Chain Reaction (PCR)

۵. قطع درختان آلوده از زیر محل پیوند (در صورت استفاده از پایه های فوق حساس)

و پیوند مجدد آنها با پیوندک عاری از ویروس

۶. در مناطقی که انتشار بیماری خط سیاه گردو اندک می باشد، ریشه کن کردن

درختان آلوده بلافاصله پس از شناسائی

۷. کشت متراکم درختان برای کسب حداکثر محصول قبل از بروز خسارت. برای

موفقیت در این کار ارقامی انتخاب شوند که زودبارده، کوچک و پرمحصول باشند.

۸. جلوگیری از گسترش نژادهای ویروسی در سطح بین المللی از طریق ورود نهال های

سالم به کشور

۹. مصرف بذور سالم برای تولید پایه

ویروس ممکن است در میزبان هائی که به طور سیستمیک آلوده شده اند، وجود داشته باشد

لذا به خزانه کاران توصیه می شود که بذور مورد نیاز گردو را از درختان سالم و مناطق عاری

از ویروس انتخاب کنند.

۱۰. رعایت بهداشت زراعی در هنگام هرس و سایر عملیات باغبانی انتقال ویروس از راه

مکانیکی را کاهش می دهد.

هم اکنون محققین در تلاشند تا در راستای بهبود و توسعه یک راهکار اجرائی برای

کنترل بیماری خط سیاه از طریق روش های اصلاحی، ارقام گردوی ایرانی مقاوم به CLRV و

یا پایه های متحمل در برابر بیماری ایجاد نمایند. تاکید این نکته ضروریست که با توجه به

گسترش روزافزون استفاده از نهال های پیوندی گردو در کشور و اهمیت بیماری خط سیاه در

باغ های گردو، **انتخاب دقیق پایه** می تواند سبب ممانعت از ایجاد و گسترش آلودگی درختان

گردوی پیوندی به CLRV شود.



شکل ۶ - نمائی از درختان سالم گردو روی پایه گردوی ایرانی رقم چندلر در باغهای کالیفرنیا

منابع مورد استفاده

۱. جعفر پور، ب. ۱۳۷۰. روشهای تشخیص ویروسهای گیاهی (ترجمه). انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد. ۲۶۰ صفحه.
۲. جلیلی مرندی، ر. و حکیمی رضایی، ج. ۱۳۸۲. پرورش فندق، بادام، گردو (ترجمه). انتشارات جهاد دانشگاهی آذربایجان غربی، ارومیه. ۱۹۲ صفحه.
۳. حسنی، د. ۱۳۸۴. بررسی و مقایسه ژنوتیپ های برتر گردو با ارقام خارجی. گزارش نهائی، سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی. موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر. ایران. کرج.
۴. درویشیان، م. ۱۳۸۲. پرورش گردو به روش جدید. چاپ سعید نو. ۱۳۶ صفحه.
۵. رادنی، ح. ۱۳۷۵. پایه های درختان میوه (ترجمه). نشر آموزش کشاورزی. ۶۳۷ صفحه.
۶. گریگوریان، و. ۱۳۸۱. فیزیولوژی پیوند و روش های پیوند زنی. انتشارات عمید. تبریز. ۳۵۸ صفحه.
۷. طباطبائی، م.، دهلوی، ا و احمدی، ع. ۱۳۷۷. گردو، هیکوری و پکان. انتشارات جهاد دانشگاهی ماجد. ۴۰۶ صفحه.
۸. وحدتی، ک. ۱۳۸۲. احداث خزانه و پیوند گردو. انتشارات خانیران، تهران. ۱۴۰ صفحه.
9. Grant, J A., and McGranahan, G H. 2005. English walnut rootstocks help avoid blackline disease, but produce less than paradox hybrid. **California Agriculture**. 59(4): 249-251.
10. Hamacher, J., and Quad, A. 1991. Light and electron microscopic studies of cherry leaf roll virus (CLRV) on European Ash (*Fraxinus excelsior*). **Journal of Phytopathology**. 131: 215-226.

11. Jones, A. T. 1985. Cherry leaf roll virus. CM/AAB Description of plant viruses. No.306.
12. Karadeniz, T. 2005. Relationships between graft success and climatic values in walnut (*J. regia* L.). **J. Cent. Euro. Aagri.** 6 (4)
13. Mircetich, S. M., Sanborn, R. R., and Ramos, D. E. 1980. Natural spread, graft – transmission and possible etiology of walnut black line disease. **Phytopath.** 72: 988-990.
14. Polak, J., Chaloupkova, M., and Jokes, M. 2004. Biological and serological procedures to detected nepoviruses in fruit trees. **Plant Protect. Sci.** 40(4): 121-127.
15. Ramos, D. E.1998. Walnut Production Manual.University of California. 316P.
16. Schuster, C. E., and Miller, P. W. 1933. A disorder of Persian (English) walnuts grafted on black walnut stocks, resulting in girdling. **Phytopath.** 23: 408-409.
17. Suk-In, H., Moon-Ho, *et al.* 2006. Study on the new vegetative propagation methode epicotyl grafting in walnut trees (*Juglans* spp.). **Acta Hort.**705: 371-374.
18. Teviotdale, B. L., Michailides, T. J., and Pscheidt, J. W. 2002. Compendium of Nut Crop Diseases in Temperate Zones. APS Press, St. Paul. Minnesota, USA.
19. Westwood, M. N. 1993. Temperate zoon pomology. Timber Press, Portland, Oregon.
20. Ringtong, X., and Pinghai, D. 1990. Theory and practice of walnut grafting . **Acta Hort.** 284: 69-88