مجله علمی پژوهشی اکو فیزیولوژی گیاهان زراعی،دوره۸،شماره۳-پاییز ۱۳۹۵. دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر قدس.صفحه ۲۸۰-۲۷۲

تشخیص سرولوژیکی و مولکولی برخی از عوامل ویروسی آلوده کننده گیاه نخود (*Cicer arietinum*)در استان های لرستان و همدان

تارا حاجی یوسف[۱*]، نوح شهرآیین[۲]، مژده ملکی[۳]

چکیده

کاشت و افزایش تولید حبوبات از جمله نخود (*Cicer arietinum*) یکی از اولویت های محصولی در کشور محسوب می شود. نخود به عنوان یکی از منابع پروتئینی برای تغذیه انسان ها و نیز در تثبیت نیتروژن خاک از اهمیت ویژه ای در اقتصاد مقاومتی در کشاورزی کشور برخوردار است. مزارع دیم استان های لرستان و همدان یکی از قطب های مهم کاشت این محصول است. عوامل ویروسی متعددی با عث بروز بیماری و خسارت به این گیاه در شرایط رشد در مزرعه میشوند . در طی فصل زراعی سال ۱۳۹٤ نمونه های متعددی از گیاه نخود قبل از شرایط گلدهی و غلاف بندی با علایم زردی ، اغلب به همراه کوتولگی و توقف رشد ، سرخی و برنزه شدن حاشیه برگ ، ریز برگی ، قهوی شدن آوند آبکشی، زردی و خشکیدگی نوک گیاه ، جمع آوری گردید. با بکارگیری آزمون های سرولوژیکی الایزا ولکه گذاری بافتی (TIBA) ، آلودگی برخی از نمونه های جمع اوری شده به ویروس های جنس لوتیو ازجمله CpCSV, BLRV, SbDV, BWYV و نانو ویروس FbNYVV محرز گردید. جهت تایید آلودگی از روش RT-PCR با استفاده از جفت آغاز گر های عمومی جنس لوتیو ویروس ها، cDNA ویروسی در دستگاه ترموسیکلر تکثیر گردید و منجر به ایجاد باند مورد نظر (٦٠٣bp) در ژل آگاروز شد. آگاهی و تشخیص سریع و دقیق آلودگی های ویروسی در گیاه نخود در یک منطقه موجب بکارگیری مدیریت صحیح در انتخاب مناسب ارقام امید بخش و مقاوم به هر یک از بیماری های ویروسی و نژادهای وابسته در منطقه خواهد شد.

کلید واژه ها: ویروس، نخود، زردی،سرولوژی، لوتیوویروس

۱*- نویسنده مسئول: دانشجوی کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی ورامین ، پیشوا
Correspondence: E-mail: taray۲۳@gmail.com , Tel:۰۹۱۲۶۳۰۴۲۴۹

۲- دانشیار، بخش تحقیقات ویروس شناسی گیاهی- مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور (IRIPP) ، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی (تات) تهران

۳- استادیار، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی ورامین، پشوا

مقدمه

از کل تولید حبوبات در کشور (۵۰۵۰۰۰ تن)، محصول نخود با ۳۷/۴ درصد سهم تولید رتبه اول و محصول لوبیا با ۳۵/۵ درصد در رتبه بعدی قرار گرفته اند. کمتر از نیمی (۴۴/۶ درصد) ازتولید حبوبات در چهار استان لرستان، کرمانشاه، آذربایجان شرقی و خوزستان حاصل شده است که به ترتیب با ۳/۶،۱۴/۱۱، ۱۰و۸/۸ درصد سهم در تولید حبوبات رتبه های اول تا چهارم را به خود اختصاص داده اند. طبق آمار ارائه شده در آمار نامه کشاورزی سال ۱۳۹۱-۹۲ سطح زیر کشت نخود در ایران ۴۷۲۰۰۰ هکتار است که از این میزان ۱۲۰۰۰ هکتار مربوط به کشت آبی و ۴۶۰۰۰ هکتار آن کشت دیم می باشد. سه استان مهم کشت این محصول لرستان ،کرمانشاه وهمدان می باشد (Anonymous., ۲۰۱۳).

بیمارگر های ویروسی باعث ایجاد انواع علائم از جمله زردی برگ، توقف رشد، کوتولگی و در نهایت اختلال در تشکیل دانه و غلاف در گیاه نخودمیشوند و از مناطق مختلف کاشت نخود و همچنین از ایران نیز گزارش شده است (Najar et al., ۲۰۰۰, Makkouk et al., ۲۰۰۰۲, ۲۰۰۳; Kumari at al., ۲۰۰۴, ۲۰۰۶a, Shahraeen et al., ۲۰۱۲; Heydari et al., ۲۰۱۳,). بر اساس سابقه و گزارشات، تعدادی از عوامل ویروسی متعلق به تیره و جنس های مختلف ویروسی باعث ایجاد آلودگی و ایجاد علایم مختلف در گیاه نخود میشوند این عوامل بیمارگر شامل :

ویروس کوتولگی سویا (*Soybean dwarf virus*, SbDV)، ویروس کوتولگی کلروز نخود (*Chickpea chlorotice dwarf virus*, CpCDV)، ویروس موزائیک زرد چغندر قند (*Beet western yellow virus*, BWYV) (Makkouk et al., ۲۰۰۲,۱۹۹۷،۲۰۰۱b)، ویروس زردی نکروتیک باقلا (*Faba bean necrotice yellow* virus, FBNYV)، ویروس موزائیک خیار (*Cucumber mosaic virus*, CMV)، ویروس موزائیک یونجه (*Alfalfa mosaic virus*, AMV) (Kaiser et al., ۱۹۶۸)، ویروس برگ قاشقی باقلا (*Bean leaf roll virus*, BLRV) (Kaiser et al., ۱۹۶۸;Kumari et al,۲۰۰۴) ویروس موزائیک زرد لوبیا (*Bean yellow mosaic virus*, BYMV) ، ویروس موزائیک توته ای نخود فرنگی (*Pea enation mosaic virus*, PEMV)، ویروس موزائیک بذر زاد نخود فرنگی (*Pea seed borne mosaic virus*, PSbMV)، ویروس پژمردگی کوتولگی لوبیا (*Broad bean wilt virus*, BBWV) ، ویروس کلروز لکه ای نخود فرنگی (*Chickpea chlorotice stunt virus*, CpCSV) (Najar., ۲۰۱۱)، ویروس موزائیک معمولی لوبیا (*Bean common mosaic virus*, BCMV) (Bos et al., ۱۹۸۸, Hampton., ۱۹۷۵, Makkouk et al., ۱۹۸۸,) میباشند. عوامل بیماری زای ویروسی نخود باعث بروز علائم پژمردگی گیاه، زردی، موزاییک زردی وتوقف رشد ودر نهایت خسارت به محصول میشوند این عوامل از ایران وسایر نقاط دنیا گزارش شده است (Makkouk et al., ۲۰۰۲;Chen et al.,۲۰۱۱; Kaiser and Danesh., ۱۹۷۱; Horn et al., ۱۹۹۶,۱۹۹۵).

عوامل متعددی سبب ایجاد علایم زردی وموزاییک روی گیاه نخود می شوند. مانند: نماتدها، بیماری های فیزیولوژیک، عوامل قارچی ، ویروسی وغیره که در این تحقیق به تشخیص سرم شناختی و مولکولی برخی ازعوامل ویروسی (از گروه لوتیو ویروس ها) آلوده کننده گیاه نخود در دو استان مذکور می پردازیم.

مواد و روش ها

از مناطق و مزارع مهم کاشت نخود (نخود به صورت دیم کاشته می شود) استان های لرستان و همدان (جدول-۱) نمونه برداری شد. نمونه های گیاه نخود در شرایط قبل از گل دهی و ایجاد غلاف بازدید شدند، و از گیاهان مشکوک به بیماری ویروسی با علائم زردی به صورت انتخابی و بعضا تصادفی نمونه برداری صورت گرفت. بر اساس روش توصیفی(Makkouk et al.،۲۰۰۱،۲۰۰۲ نمونه های گیاهی هر کدام با ثبت تاریخ، محل نمونه برداری و شرایط گیاه یادداشت برداری و درون کیسه های پلاستیکی داخل یخدان قرار داده شدند و به آزمایشگاه بخش تحقیقات ویروس شناسی، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور- تهران، منتقل شدند.

آزمون های سرولوژیکی الایزا و لکه گذاری بافتی-TIBA

از آزمون های سرولوژیکی الایزا، لکه گذاری بافتی جهت تعیین آلودگی عوامل ویروسی در گیاه نخود آلوده به علایم زردی استفاده شد. تست های مکمل سرولوژیک با به کار گیری ترکیبی از آنتی سرم های چند همسانه ای وتک همسانه ای اهدایی از مرکز ایکارداکشور سوریه و DSMZ (آلمان) وروش توصیفی(Makkouk et al.,۲۰۰۱;Torrance (۱۹۸۱ and Jones., انجام شد.خلاصه آزمون سرولوؤیک لکه گذاری بافتی به شرح زیر است.

آزمون لکه گذاری بافتی : Tissue- Blot

خلاصه مراحل کار:

۱.برگ، ساقه، دمبرگ را با تیغ بریده روی کاغذ نیترو سلولز زده می شود.

۲.سه بار شستشو با بافرPBST به مدت ۵ دقیقه.(در بین تمان مراحل تکرار میشود

۳.بلاکینگ[۳] با شیر خشک وPBST، به مدت یک ساعت در دمای اتاق قرار داده می شود.

٤.اضافه کردن آنتی سرم پلی کلونال به نسبت ۱ به ۵۰۰، ۱ به ۲۰۰۰ در بافر PBS یا آنتی سرم مونوکلونال در Conjugateویک ساعت در دمای اتاق قرار داده می شود.

٦.اضافه کردن آنتی بادی بز علیه خرگوش[٤] در بافر conjugate برای پلی کلونال یا اضافه کردن انتی بادی خرگوش علیه موش[٥] در بافر conjugate برای مونوکلونال.

۷-اضافه کردن بافر Substrate.

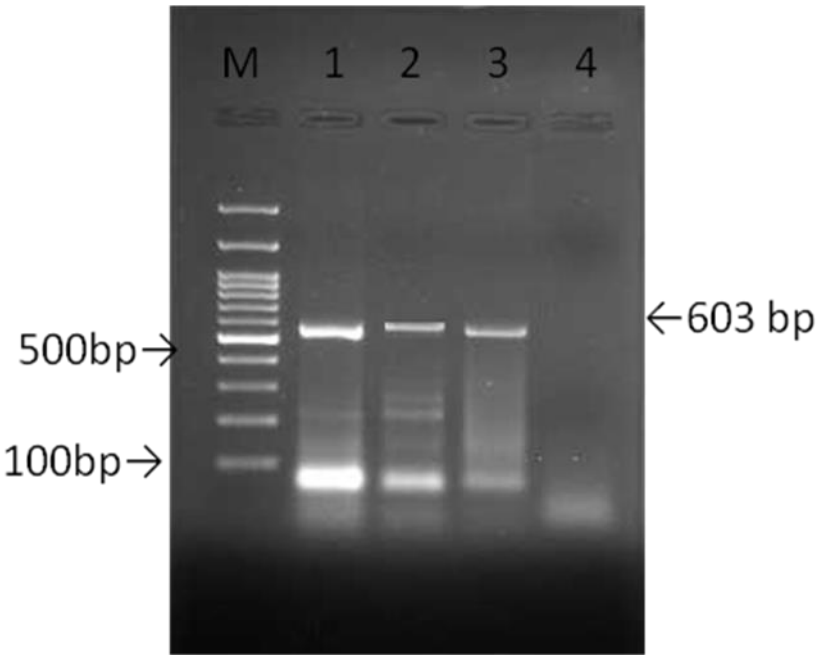
۸.بعد از تغیر رنگ کاغذ را در آب مقطر گذاشته می شود.

براساس نتایج آزمون سرم شناختی الایزا و لکه گذاری بافتی (TIBA) نمونه های دارای آلودگی به جنس لوتئو ویروس های مورد بررسی انتخاب وبر اساس مطالعه وضعیت و شدت آلودگی (بر اساس نتایج آزمون های سرولوژیک) ، عامل مهم ویروسی آلوده کننده جهت آزمون تکمیلی مولکولی انتخاب شد.

آزمون RT-PCR :

برخی از نمونه های گیاهی که در آزمون سرولوژیک مثبت ارزیابی شده بودند انتخاب شده و با استفاده از آزمون RT-PCR و با استفاده از جفت آغاز گرهای اختصاصی و عمومی (جنس لوتیو) مورد آزمایش قرار گرفتند.

استخراج Total RNA از نمونه ها ی لرستان شماره های ۵ و ٦ و همدان ۲ نمونه (جدول -۱ و شکل -۱) با استفاده از محلول های تجاری استخراج RNA مانندRNX-plus ساخت شرکت سیناژن بر اساس روش توصیه شده توسط شرکت سازنده (Sinaclone, Tehran, Iran) انجام شد. جهت انجام RT-PCR برای تعیین خصوصیات مولکولی مهمترین ویروس دخیل در عارضه از روش کلی توصیفی Abraham et al., ۲۰۰۸ با تلفیقی از ۳ جفت پرایمر توصیفی (sence and antisense) برای منطقه حفاظت شده از پروتئین پوششی جنس لوتیو ویروسها استفاده شد. قطعات تکثیر یافته در واکنش زنجیره ای پلی مراز، با استفاده از کیت های استخراج از ژل (شکل ۱)، جدا و خالص سازی شده و جهت تکمیلی و تعیین توالی به شرکت مربوطه ارسال خواهد شد.



شکل۱- ردیابی مولکولی عوامل ویروسی جنس لوتیو ، چاهک ها از چپ به راست: DNA-Ladder (M)، ۱- کنترل مثبت (نمونه لرستان)، چاهک های ۲ و۳ نمونه های نخود و٤- نمونه ی کنترل منفی

نتایج :

آلودگی گیاه نخود به بیمارگر های ویروسی باعث بروز علایم مختلف در گیاه و ایجاد خسارت به محصول میگردد. حدود ۱۷۰ نمونه گیاهی دارای علائم ویروسی با استفاده از ۵ آنتی بادی مورد آزمایش قرار گرفتند. نتایج تست سرولوژیکی الایزا و لکه گذاری بافتی (TIBA) نشان داد (جدول-۱) که بیشترین آلودگی این گیاهان مربوط به ویروس BLRV در استان لرستان بوده که با آنتی بادی های (Polyclonal و مونوکلونال Mab-۲-٥G٤ و،Mab-٤-٦G٤) مورد

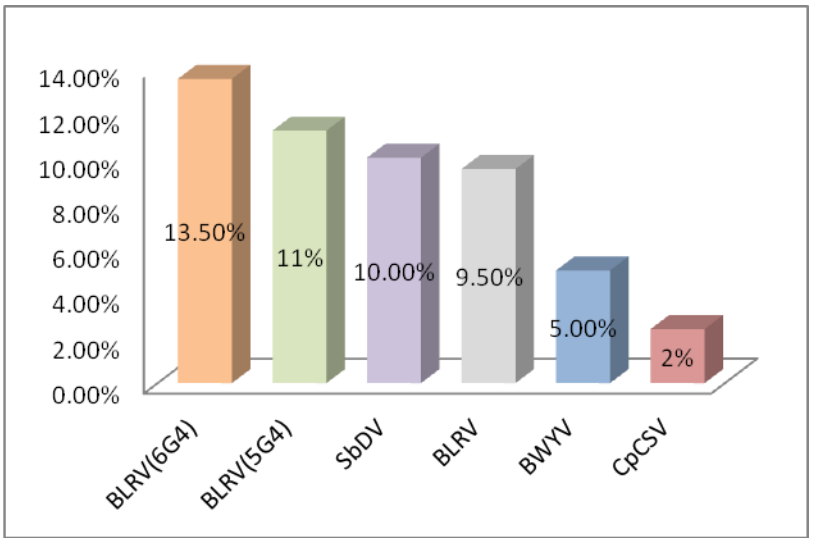
آزمایش قرار گرفت (نمودار-۱). همچنین نتایج این بررسی نشان داد تعدادی از نمونه ها تواما با آنتی بادی علیه ویروس SbDV و BWYV واکنش مثبت داشتند. در حالیکه نمونه های مذکور واکنش بسیار کمی نسبت به آنتی بادی FbNYV و CpCSV نشان دادند. با توجه به نتایج بدست آمده از این آزمایشات درصد آلودگی نمونه ها بطور کامل در (جدول-۱ و نمودار- ۱) نشان داده شده است. برای دریافت نتیجه ی بهتر آزمون PCR-RT انجام شد. نتایج حاصل از واکنش RT-PCR با استفاده از۳ جفت آغزگرهای عمومی طبق روش توصیفی Abraham et al., ۲۰۰۸ با هدف ردیابی جنس *luteovirus* نشان داد که قطعه RNA مورد نظر به اندازه ٦٠٣bp جفت باز تکثیر شد (شکل ۱).

جدول ۱- نتایج آزمون الایزا و لکه گذاری بافتی با استفاده از آنتی بادی های تک همسانه ای (polyclonal) و چند همسانه ای -Mab

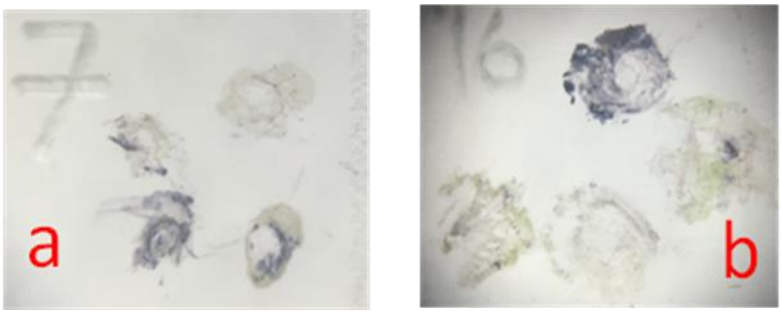
محل نمونه‌ها	شماره نمونه در آزمایش*	نام ویروس ها														آلودگی مخلوط
		CpCSV I		FbNYVV II		BWYV III		BLRV (Mab-٦G٤) IV		BLRV (Mab-٥G٤) V		BLRV polyclonal VI		SbDV VII		
		E	T	E	T	E	T	E	T	E	T	E	T	E	T	
استان لرستان																
نور آباد	**۱**	-	-	-		-			۴+		۴+	+	۱+		۲+	**IV,V, VI,VII**
فیروز آباد	**٤**	-	-	-		-			۳+		۴+	+	-		۳+	**IV,V, VI,VII**
الشتر	**٥**	-	-	-		+			۴+		۴+	+	-		-	**III,IV,V, VI**
تکانه	**٦**	-	-	-		+			۴+		۴+	+	-		-	**III,IV,V**
خرم‌آباد (بیشه)	**۸**	-	-	-		-			۴+		۱+	-	-		۴+	**IV,V, VII**
جمع		-	-	-		۸			۱۹		۱۷	۱۶	۱		۹	
استان همدان																
اسدآباد ۲	**۲٦**	-	-	-		-			-		-	-	-		۴+	**VII**
پفانج	**۲۸**	+	۴+	-		-			۴+		۲+	-	۴+		۴+	**I,IV,V, VI,VII**
جمع		۴	۴	-		-			۴		۲	–	۴		۸	
جمع کل		۴	۴	۰		۸			۲۳		۱۹	۱۶	۵		۱۷	

E: ELISA, T: Tissue blot immunoassay

+ = نمونه آلوده ، بترتیب شدت واکنش در آزمون= ٤+۳ +۲+ ۱، - = سالم



نمودار ۱- درصد آلودگی نمونه ها در مقابل آنتی بادی های مورد بررسی



شکل۱- a,b نتیجه واکنش لوتیو ویروس- CpCSV بر روی کاغذ نیترسلولوز با بکارگیری آزمون سرولوژیک - Tissue blot . قسمت های بنفش رنگ اثر مربوط به آلودگی و قسمت های سبز رنگ اثر نمونه های سالم است.

بحث :

در سالهای اخیر مناطق مهم کاشت نخود مشکوک به بیماری ویروسی با علائم زردی، خشکیدگی نوک گیاه، کوتولگی و توقف رشد، سرخی و برنزه شدن حاشیه برگ، ریز برگی، قهوه ای شدن آوند آبکشی، در برخی از کشورهای غرب آسیا (ایران ، سوریه، پاکستان ، عراق ، اردن ، ترکیه و برخی کشورهای آفریقایی و آمریکا و عوامل مختلف ویروسی متعلق به سایر جنسهی و خانواده ویروسی شامل جمینی، برومو،نانو،پوتی،توسپو، کارلا، گزارش شده است (Horn et al., ۱۹۹۵, ۱۹۹۶; Bananej et al.,۲۰۱۰; Hydari et al.,۲۰۱۲).

در این مطالعه در دو استان لرستان و همدان، در اوایل خرداد ماه سال ۱۳۹۴ حدود ۲۰ تا ۳۰ مزرعه مورد بررسی قرار گرفت و گیاهان مشکوک به آلودگی ویروسی دارای علائم زردی در برگ جمع آوری شدند. بر طبق این بررسی بیشتر از ۵۰٪ گیاهان مورد مشاهده دارای علائم زردی بودند و بیشتر این نمونه های آلوده در منطقه لرستان گزارش شدند، آزمون الایزا و لکه گذاری بافتی برای ردیابی ۵ ویروس انجام شد. در نتیجه آلودگی نمونه ها به ویروس های BLRV، SbDV، BWYV و CpCSV مشخص

شد (نمودار ۱). بنابراین نتایج نشان داد که مزارع نخود استان لرستان به ویروس های BLRV(polyclonal(۰/۶٪), Mab-۴-۶G۴(۱۲/۱٪), Mab-۲-۶G۴(۱۱/۲٪)) SbDV(۵/۳٪) و BWYV(۵٪) آلوده است. و همچنین استان همدان به ویروس های BLRV(polyclonal(۲/۳٪), Mab-۴-۶G۴(۲/۴٪), Mab-۲-۵G۴(۱/۲٪)) ،SbDV(۵٪) و CpCSV(۲,۴٪) آلوده است. بطور کلی مزارع استان لرستان با درصدی حدود ۱۱/۲٪ بیشترین آلودگی را نسبت به ویروس BLRV دار بودند. به طور کلی جمعیت ویروسی BLRV از فراوانی بیشتری در نمونه ها برخوردار بود و مطالعات تکمیلی با بکارگیری روش های مولکولی شناخت بیشتری از خصوصیات ویروس را آشکار خواهد نمود . خصوصا تعیین توالی و بررسی درصد مشابهت هر کدام از این عوامل در مقابل توالی های گزارش شده در بانک ژن ویروس های گیاهی . بررسی های مقدماتی نشان دهنده این موضوع است که جمعیت متفاوتی از عوامل بیمارگر ویروسی در مناطق دیم کاشت حبوبات وجود داشته باشد که نیازمند بررسی مناطق و جمع آوری نمونه های بیشتری جهت مطالعات تکمیلی است. با توجه به بررسی هایی که انجام شد می توان به اهمیت این موضوع پی برد که علاوه بر خسارت اقتصادی جبران ناپذیری که این مزارع در سالهای آینده با آن روبرو هستند گیاهان آلوده به عنوان منبع آلودگی ویروسی می توانند تحدیدی برای سایر محصولات منطقه باشند.

منابع:

-Abraham, AD., Menzel, W., Lesemann, DE., Varrelmann, M., Vetten, HJ. (۲۰۰٦). *Chickpea chlorotic stunt virus* : A new polerovirus infecting cool-season food legumes in ۹٦(٥): Ethiopia. Phytopathology. ٤٣٧-٤٤٦.

-Anonymous, (۲۰۱۳). Cultivated crop production statistics, office of planning and economic studies , Ministry of agriculture, lslamic republic of Iran. ۲۱۲ pp.

-Bananej, K., Vahdat, A., Menzel, W., Vetten, HJ. (۲۰۱۰). Serological and molecular identification of *chickpea chlorotic stunt virus* from chickpea in Iran. Plant disease ۹٤, ۷۸۸.

-Bos, L., Hampton, R., and Makkouk, K. (۱۹۸۸). Viruses and virus diseases of pea, lentil, faba bean and chickpea. World crops: Cool season food legumes, Spriner, pp.٥۹۱-٦۱٥.

-Chen, W., Sharma, H.C., Muehlbaur, F.J. (۲۰۱۱). Compendium of chickpea and lentil diseases and pests. American Phytopathological Society-APS, Part - ۱ : Diseases caused by viruses.

-Haobing, L.I., Rodda, M., Gnanasambandam, A., Aftab, M., Redden, R., Hobson, K., Rosewarne, G., Materne, M., Kaur, S., Slater, T.A. (۲۰۱٥). Breeding for biotic stress resistance in chickpea: progress and prospects. Euphytica ۲۰٤:۲٥۷-۲۸۸

-Heydari F , Shahraeen N , Maleki M (۲۰۱۳). Serological and molecular detection of two viruses from bromoviridae family infecting chickpea plant. The ۸TH biotechnology symposium and fourth national biosecurity symposium of IR of Iran,٦-۸ July ,Tehran, Iran

-Horn, NM., Makkouk, K.M., Kumari, S.G., van den Heuvel JFJM, Reddy, D.V.R. (۱۹۹٥). Survey of chickpea (*Cicer arietinum L.)* for chickpea stunt disease and associated viruses in Syria, Turkey and Lebanon. Phytopath Medit ۳٤:۱۹۲-۱۹۸.

- Horn NM, Makkouk KM, Kumari SG, van den Heuvel JFJM, Reddy DVR (۱۹۹٥). Survey of chickpea (*Cicer arietinum L.)* for chickpea stunt disease and associated viruses in Syria, Turkey and Lebanon. Phytopath Medit ۳٤:۱۹۲-۱۹۸

- Kaiser, W., Danesh, D., Okhovat, M., and Mossahebi, H. (۱۹٦۸). Diseases of pulse crops (edible legumes) in Iran. Plant Disease Report, ٥۲(۹): ٦۸۷-٦۸۹.

-Kumari, S.G., Rodoni, M.F., Makkouk, K.M., Freeman, A., vanLeur, J. (۲۰۰٤). Distribution, identification and characterization of Luteoviruses affecting food legumes in Asia and North Africa In: Proceeding of ۱۲th Mediterranean Phytopathological Congress, ۱۱-۱٥ June, Rhode Island, Greece,٤۱۲-٤۱٦.

-Kumari SG, Rodoni B, Loh M, Makkouk KM, Freemanand M, van Leur J (۲۰۰٦a) Distribution, identification and characterization of *Luteoviruses* affecting food legumes in Asia and North Africa. In: *Proceeding of* ۱۲th *Mediterranean Phytopathological Congress*, ۱۱–۱٥ June ۲۰۰٦, Rhodes Island, Greece, ٤۱۲–٤۱٦

-Makkouk, KM., Kumari, S.G., Shahraeen, N., Fazali, Y., Farzadfar, S., Ghotbi, T., Reza, Mansouri, A. (۲۰۰۳). Identification and seasonal variation of viral disease of chickpea and lentil in Iran. Journal of Plant Disease and Protection ۱۱۰ (۲): ۱٥۷-۱٦۹.

- Makkouk, KM, Fazlali Y, Kumari SG, Farzadfar S (۲۰۰۲) . First record of *Beet western yellows, Chickpea chlorotic dwarf, Faba bean necrotic yellow and Soybean dwarf viruses* affecting chickpea and lentil crops in Iran. P۱ Path ٥۱:۳۸۷

-Makkouk, KM, Damsteegt V, Johnstone GR, Katul L, Lesemann DE, Kumari SG (۱۹۹۷) Identification and some properties of soybean dwarf luteovirus affecting lentil inSyria. Phytopath Medit ۳٦:۱۳٥-۱٤٤

-Makkouk, KM, Kumari SG, Lesemann DE (۲۰۰۱b). First record of *Pea enation mosaic virus* naturally infecting chickpea and grass pea crops in Syria.P۱ Dis ۸٥:۱۰۳۲

-Najar, A., Makkouk, K.M., Boudhir, H., Kumri, S.G., Zarouk, R., Bessai, R., Ben, Othman, F. (۲۰۰۰). Viral diseases of cultivated legume and cereal crops in Tunisia. Phytopath Medit ۳۹: ٤۲۳-٤۳۲.

-Shahraeen, N., Azadbakhat, N., Yunesi, H. (۲۰۱۲). Reports of viral diseases of cool season legumes in Iran and control managements strategies. In abstracts of the ٤th Iranian Pulses crop symposium,۸-۹ Feb.۲۰۱۲,Arak, Iran.

-Torrance, L. and Jones, R. A. C. (۱۹۸۱). Recent developments in serological methods suited for use in routine testing for plant viruses. Plant Pathology, ۳۰: ۱-۲٤.

Serological and Molecular Diagnosis of Some Viral Diseases Infecting Chickpea (*Cicer arietinum*) in Lorestan and Hamadan Provinces in Iran

Hajiusef T, Shahraeen N and maleki M

Abstract

Legume cultivation and production including chickpea is one of the main agricultural objectives in Iran. Chickpea crop is a good sources of protein consumption for human diet and play a significant role in nitrogen fixation in cultivated soil and also self reliance for Iran economy. Chickpea cultivated as a non irrigated crop in Lorestan and Hamadan provinces in Iran. Several virus diseases infecting chickpea and causing loss to the crop at growing stages in the field. During the year ۲۰۱٤ , several chickpea samples before the flowering and pod set stages with symptoms of general yellowing often with stunting, dwarfing, bronzing of leaf margin, narrow leaf, browning of inner stem ,were collected. Serological tests including Elisa and tissue blot (TIBA) indicated that some samples were infected by luteoviruses of CpCSV, BLRV, SbDV, BWYV and the nanovirus FbNYVV. To confirm the serological results, RT-PCR test were carried using the general set of primers for luteovirus amplification. Viral cDNA were amplified in thermocycler which resulted in a specific band of about ٥٣٠bp in agarose gel.

Key word: Chickpea, luteovirus, serology, virus, yellowing.