

گزارش علمی کوتاه

اولین گزارش از وجود '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' همراه با بیماری میوه سبز مرکبات (Huanglongbing) در استان فارس

محمد صالحی^{۱*} و رسول رسولپور^۱

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۶/۳۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۱/۲)

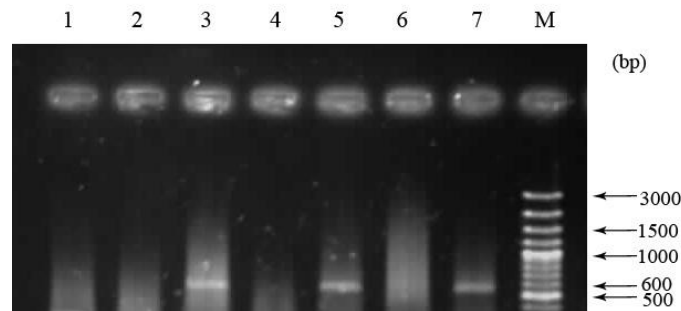
میوه سبز مرکبات (هوانگ لونگ بینگ) یکی از خطرناک ترین بیماری های مرکبات در نقاط مختلف دنیا می باشد. تا کنون سه گونه باکتریایی شامل '*Candidatus Liberibacter asiaticus*'، '*Ca. Liberibacter africanus*' و '*Ca. Liberibacter americanus*' همراه با بیماری میوه سبز گزارش شده اند (Bové 2006). پیشتر '*Ca. Liberibacter asiaticus*' عامل فرم آسیایی بیماری میوه سبز مرکبات و ناقل آن، *Diaphorina citri* از استان های سیستان-بلوچستان، هرمزگان (Faghihi et al. 2008) و کرمان (Mohkami et al. 2012) گزارش شده اند. با توجه به شیوع پسیل آسیایی مرکبات، ناقل فرم آسیایی بیمارگر و ظهور علائم مظنون به بیماری میوه سبز در درختان مرکبات استان فارس، در آزمون پی سی آر مستقیم با استفاده از جفت آغازگر F1/R1 و آشیانه ای با استفاده از جفت آغازگر های F1/R1 در مرحله اول و F2/R2 در مرحله دوم، اختصاصی عامل فرم آسیایی بیماری میوه سبز، وجود عامل بیماری میوه سبز در نمونه های پسیل و درختان مظنون ردیابی شد. در رنجکوی محمد آباد جهرم شش نمونه از ۱۴ نمونه پسیل و سه نمونه از ۱۰ نمونه لیمولیسبون، در دشت پیر غیب داراب هشت نمونه از ۱۰ نمونه پسیل و در تنگ ایچ فسا پنج نمونه از هشت نمونه پرتقال والنسیا و سه نمونه از پنج نمونه گریپ فروت در آزمون های پی سی آر مستقیم و آشیانه ای حامل باکتری بیمارگر شناسایی شدند (شکل ۱) و در آن ها قطعات مورد انتظار به ترتیب ۵۳۵ و ۴۰۰ جفت باز تکثیر شد. تحت همین شرایط در پسیل های جمع آوری شده روی نهال های سالم پرتقال و نمونه های درختان سالم مرکبات باند متناظر مشاهده نگردید. محصول پی سی آر مستقیم یک نمونه پسیل و یک نمونه لیمولیسبون از جهرم به طور مستقیم تعیین ترادف شد و تحت رس شماره های KT626604 و KT626605 در بانک جهانی ترادف ها قرار داده شد. جستجو با برنامه BLAST نشان داد که ترادف های به دست آمده با ترادف های متناظر در خوشه ژنی *rplKAJL-rpoBC* مربوط به باکتری عامل فرم آسیایی در استان هر مزگان (رس شماره FJ172759) و رس شماره های M9439، AY34200، EU078703 در سایر نقاط دنیا تشابه ۹۹ درصد دارند و عامل بیماری میوه سبز مرکبات در فارس ناشی از '*Ca. Liberibacter asiaticus*' می باشد. این اولین گزارش از وقوع بیماری میوه سبز در باغ های

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: salehi_abarkoohi@yahoo.com

۱ - بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس

مرکبات استان فارس می باشد. بیماری میوه سبز در استان فارس تهدیدی جدی برای کشت مرکبات در استان های مرکبات خیز همجوار میباشد.

کلید واژگان: بیماری میوه سبز، مرکبات، استان فارس.



شکل ۱. الکتروفورز محصول پی سی آر مستقیم با جفت آغازگر F1/R1 (۵۳۵ جفت باز) در ژل آگارز یک درصد. راهک ۱، یک نمونه از *Diaphorina citri* جمع آوری شده از روی نهال های سالم پرتقال. راهک های ۲ تا ۷ نمونه های *D. citri* جمع آوری شده از روی درختان لیمو لیسبون دارای علائم بیماری هوانگ لونگ بینگ در جهرم. راهک M، مارکر صد جفت بازی.

Fig. 1. Electrophoresis of direct PCR using primers pair F1/R1 (535 bp) in 1% agarose gel. Lane 1, '*Ca. Liberibacter asiaticus*' free sample of *Diaphorina citri* reared on healthy sweet orange seedlings; Lanes 2-7, *D. citri* samples collected on huanglongbing PCR positive Lisbon lemon trees in Jahrom; Lane M, 100bp DNA ladder.

First report of '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' associated with Huanglongbing in Fars province

M. Salehi^{1*} and R. Rasoulpour¹

(Received: 21.9.2015; Accepted: 22.1.2016)

Huanglongbing (HLB) also known as citrus greening is one of the most destructive disease of citrus worldwide. Three bacterial species including '*Candidatus Liberibacter asiaticus*', '*Ca. L. africanus*' and '*Ca. L. americanus*' have been identified as causal agents associated with this disease (Bové 2006). '*Ca. L. asiaticus*', agent of Asiatic form of the HLB disease has been previously reported in Sistan-Baluchistan, Hormozgan (Faghihi *et al.* 2008) and Kerman (Mohkami *et al.* 2012) provinces. Based on the presence of Asian citrus psyllid, vector of '*Ca. L. asiaticus*' and exhibition of Huanglongbing-like symptoms including mottling of leaves and yellowing of shoots in citrus growing areas of Fars province, samples of psyllids and symptomatic citrus trees were tested for the presence of HLB using PCR assay. Direct PCR using F1/R1 primer pair and nested PCR using primer pairs F1/R1 (first round) and F2/R2 (second round), specific for Asiatic form of HLB, resulted in amplification of expected fragments of 535 and 400 bp, respectively from six out of 14 psyllid and three out of 10 Lisbon lemon samples in Renjaco (Mohammadabad, Jahrom), 10 out of 14 psyllid samples in Dashte-peergheyb (Darab), five of eight Valencia sweet orange and three of five grapefruit samples in Tange Eij (Fasa) (Fig. 1). No amplicons were obtained from symptomless sweet orange trees and psyllid samples reared on healthy sweet orange seedlings. Direct PCR-amplified fragment from a psyllid and a Lisbon lemon sample from Jahrom were directly sequenced and submitted In GenBank database under accession numbers KT626605 and KT626604 respectively, BLAST search using obtained sequences showed 99% identity with corresponding sequences of '*Ca. L. asiaticus*' *rplKJL-rpoBC* operon from Hormozgan province (GenBank accession number, FJ172759) and other areas in the world (GenBank accession numbers, M9439, AY34200 and EU078703). This is the first report on the occurrence of HLB disease in Fars province. HLB in Fars province is a serious threat to citrus production in adjacent provinces

Key words: Huanglongbing, Citrus, Fars province.

منابع

- Bové, J. M. 2006. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. *Journal of Plant Pathology*, 88: 7-37.
- Faghihi, M. M., Salehi, M., Bagheri, A. and Izadpanah, K. 2009. First report of citrus huanglongbing disease on orange in Iran. *Plant Pathology*, 58:793 (Abstract).
- Mohkami, A., Satari, R., Lori, Z., Ehsani, A. and Nazemi, A. 2011. First report of citrus huanglongbing in the Orzooiyeh region in Kerman province. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 47: 29 (Abstract).

* Corresponding author's E-mail: salehi_abarkoochi@yahoo.com

1. Plant Protection Research Dept., Fars Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Zarghan, Iran.