



جمهوری اسلامی ایران

وزارت جهاد کشاورزی

سازمان حفظ نباتات کشور



تهیه و تنظیم:

سازمان حفظ نباتات

موسسه تحقیقات گیاهپزشکی

موسسه تحقیقات مرکبات

زمستان ۱۳۸۷

## ❖ مقدمه

بیماری گرینینگ یا میوه سبز مرکبات (Citrus Greening)، که امروزه با نام Huanglongbing (HLB) نیز شناخته می شود، یکی از مهمترین بیماری های مرکبات در دنیا می باشد. خسارت ناشی از این بیماری به باغات مرکبات بسیار سنگین و جبران ناپذیر است. این بیماری در بسیاری از مناطق آسیا و آفریقا و اخیراً در برزیل و آمریکا باعث خسارات زیادی شده است. در صورتی که درختان جوان به این بیماری آلوده شوند، به مرحله محصول دهی نرسیده و در درختان بالغ موجب ناباروری می گردد.

## ❖ عامل بیماری

عامل بیماری یک باکتری گرم منفی، غیر قابل کشت، و محدود به آوندهای آبکشی گیاه است. در مناطق مختلف دنیا سه فرم از این باکتری در مرکبات ایجاد بیماری می کنند:

۱- فرم آسیایی عامل بیماری:

*Candidatus Liberibacter asiaticus* Garnier

این فرم، معمولاً بیماری شدیدتری نسبت به فرم آفریقایی آن ایجاد می کند. همچنین متحمل به گرما بوده و علائم بیماری را تحت شرایط آب و هوای خنک تا نسبتاً گرم (تا  $32^{\circ}\text{C}$ ) ایجاد می نماید.

۲- فرم آفریقایی عامل بیماری:

*Candidatus Liberibacter africanus* Garnier

این فرم، حساس به گرما بوده و علائم بیماری را در شرایط آب و هوای نسبتاً خنک (اپتیمم  $24^{\circ}\text{C}$ - $20^{\circ}\text{C}$ ) ایجاد می کند. دوره های طولانی دمای بالا، باعث توقف توسعه علائم آن می گردد.

۳- فرم سومی بنام *Candidatus Liberibacter americanus* اخیراً از ساؤپائولو (Sao Paulo) برزیل گزارش شده است.

## ❖ انتقال و توسعه باکتری

- عامل بیماری با عمل پیوندزدن و نیز توسط دوگونه پسیل قابل انتقال می باشد. حشره ناقل فرم آسیایی بیماری؛ پسیل مرکبات (*Diaphorina citri*) و حشره ناقل فرم آفریقایی بیماری؛ پسیل *Trioza erytrae* میباشد. فرم آمریکایی بیماری نیز با پسیل مرکبات منتقل می شود. روش انتقال بصورت پایا و تکثیری بوده و حشره ناقل با یکبار تغذیه برای همه عمر آلوده به عامل بیماری می گردد.

- پس از تغذیه پسیل روی گیاه آلوده، باکتری در غدد بزاقی و همولنف حشره تکثیر شده و قادر است آن را به صورت پایا و تکثیری در تمام سیکل زندگی به میزبانهای جدید منتقل نماید.

- دوره کمون (Incubation period) در حشره ناقل از حدود کمتر از یک روز (در فرم آفریقایی) تا بیش از ۱۲ روز (در فرم آسیایی) متغیر می باشد.

- قابل ذکر است که تحت شرایط طبیعی فقط پسیل های بالغ، باکتری را منتقل می کنند.

## ❖ دامنه میزبانی عامل بیماری

- گیاهان Rutaceae میزبانهای طبیعی گونه های باکتری *Liberibacter spp.* می باشند. پرتقال (*Citrus sinensis*)، نارنگی (*C. reticulata*) و هیبریدهای نارنگی بیشترین حساسیت را به بیماری دارند. گریپ فروت (*C. x paradisi*)، نارنج (*C. aurantium*) و لمون (*C. limon*) حساسیت کمتری دارند. لیمو ترش (*C. aurantifolia*)، دارابی (*C. maxima*) و پونسیروس (*Poncirus trifoliata*) و هیبریدهایشان متحمل ترند. کامکوات (*Fortunella spp.*) نیز بعنوان یکی از میزبان های آن محسوب می شود.

- در تیره روتاسه، علاوه بر مرکبات ؛ *Murraya paniculata* ، *Atalantia missionis* و *Swinglea glutinosa* نیز میزبان عامل بیماری هستند .

- در خارج از تیره روتاسه، عامل بیماری به گیاهانی مانند پروانش و *Nicotiana xanthi* نیز قابل انتقال می باشد.

## ❖ علائم بیماری

علائم به تنهایی نمی تواند وسیله تشخیص بیماری باشند. بیماریهای دیگری همچون بلایت، استابورن ، تریستزا و کمبود عناصر غذایی (روی، آهن و منگنز) نیز می توانند علائم مشابه ای را ایجاد کنند. بنابراین اینطور استنباط نشود که گیاهی با علائمی که در ذیل توصیف خواهد شد، قطعاً آلوده به گرینینگ است . بلکه باید گیاه ، مشکوک به حساب آمده و جهت انجام تستهای آزمایشگاهی از آن نمونه برداری شود. وجود یک یا چند شاخه زرد در درختی که به تازگی آلوده شده می تواند آن درخت را به عنوان یک کاندید مناسب جهت نمونه گیری معرفی نماید.

- در شاخه های زرد شده، برگها حالت *Motteling* یا ابلقی را نشان می دهند( وجود نواحی زرد و سبز بدون مرز مشخص). در بیماری میوه سبز مرکبات ، بر خلاف عوارض فیزیولوژیکی ، حالت ماتلینگ از رگبرگها نیز عبور می کند.

- زردی سرشاخه های درخت

گاهی ممکن است تا قبل از ظهور شاخه های زرد روی درخت، زردی برگها مورد توجه قرار نگیرد. علائم معمولاً به یک شاخه یا یک بخش درخت محدود می شوند. شاخه های دیگر دارای برگها و میوه های به ظاهر سالم می باشند . به هر حال اگر آلودگی در سنین پائین رخ دهد، زردی ممکن است به تمام درخت گسترش یابد.

برگها ؛ کوچک، تنک، چرمی، ضخیم و به حالت راست بوده و رگبرگها نیز برجسته اند.

### علائم روی میوه:

برخلاف علائم روی شاخ و برگ، علائم ایجاد شده روی میوه بسیار اختصاصی می باشند. البته این علائم نیز تا حدودی مشابه علائم ایجاد شده توسط چند بیماری دیگر می باشند.

علائم روی میوه شامل:

- میوه ها کوچکتر از حالت عادی هستند
- نامتقارن شدن میوه ها
- طرف سایه دار میوه سبز باقی مانده و طرف دیگر میوه به طور طبیعی رنگ می گیرد.
- میوه های آلوده به این بیماری کمی مزه ترش و تلخ دارند (عدم بازپسندی)، در حالی که دیگر بیماریهای مرکبات که علائم مشابهی روی میوه ایجاد می کنند باعث شیرین تر شدن میوه ها می شوند.
- بذور میوه آلوده معمولاً چروکیده، پوک، تیره و عقیم می باشند.
- میوه ها شدیداً ریزش پیدا می کنند.

### علائم دیگر:

در حالت شدت بیماری، ممکن است خشکیدگی سرشاخه ها رخ دهد. ریزش شدید برگها و میوه ها و به دنبال آن شکوفه دهی خارج از فصل ممکن است روی شاخه های درخت آلوده دیده شود. احتمال خشک شدن و از بین رفتن درختان جوان در اثر آلودگی وجود دارد. علائم تغذیه برخی گونه های پسیل نیز می تواند به عنوان علامتی از حضورشان به شمار رود ( پسیل نوع آفریقایی باعث ایجاد گال توخالی روی برگها می شود).

### ❖ استراتژی های ردیابی

استراتژی ردیابی به طور کلی بر روی یافتن علائم بیماری، ناقل یا هر دو (بسته به هدف) تمرکز داشته و می بایست در درجه اول، مرکبات حساسی مانند پرتقال و نارنگی مورد توجه قرار گیرند. الف - در مناطقی که تا بحال عاری از پسیل گزارش شده اند:

(۱)- ردیابی پسیل

(۲)- ردیابی علائم بیماری

ب - در مناطق آلوده به پسیل:

(۱)- ردیابی علائم بیماری

## ❖ زمان ردیابی

مناسبتین زمان برای نمونه برداری از درخت ، در فصل پاییز و اوایل زمستان و روی شاخه های یک ساله می باشد. زیرا رشد برگها کامل شده و علائم را به خوبی نشان می دهند و همچنین امکان جمع آوری میوه ( که علائم آن برای تشخیص بیمای اهمیت دارد) نیز وجود دارد.

## ❖ اقدامات اولیه در ردیابی بیماری

الف- تشکیل شبکه ردیابی در استان

ب- آموزش افراد شبکه در ارتباط با شناخت موارد زیر:

۱- علائم ناشی از عامل بیماری

۲- مشخصات و خصوصیات ناقل بیماری(پسیل مرکبات) و علائم ناشی از پسیل در درختان

۳- نحوه جستجوی گیاهان مشکوک به آلودگی عامل بیماری گرینینگ ، محل نمونه برداری در درخت ، نوع نمونه(شاخه، برگ یا میوه) ، کد گذاری و ارسال به آزمایشگاه

۴- نحوه ردیابی پسیل در باغهای مرکبات

## ❖ رعایت نکات بهداشتی در ردیابی

ضدعفونی ابزار و تجهیزات:

اغلب بیمارگرهای گیاهی می تواند روی قیچی هرس یا چاقو و دیگر ابزاری که برای عملیات برش و هرس استفاده می شوند باقی بمانند.

برای ضدعفونی ابزار و تجهیزات از محلول وایتکس (هیپوکلریت سدیم) ۵٪ استفاده می شود که باعث غیرفعال شدن ویروئیدها و جلوگیری از گسترش آنها میگردد. برای استفاده از این محلول می توان سطح برش ابزار را با آن اسپری نمود و یا ابزار را چند لحظه درون محلول فرو برد.

## ❖ عملیات ردیابی در باغها و نهالستانهای مرکبات

الف- در مناطق آلوده به پسیل :

۱- جمع آوری اطلاعات لازم شامل ارقام درختان ، سن درختان، نوع پایه ، محل تهیه پیوندک، تاریخ مشاهده پسیل، تله گذاری و بررسی علائم ناشی از تغذیه آن روی درخت، عملیات باغبانی، دفع آفات، نوع تغذیه، آبیاری و...

۲- بازدید درخت به درخت در هر باغ یا باغچه (صرف نظر از مساحت آن) ، به منظور مشاهده درختان مشکوک و آلوده به عامل بیماری گرینینگ

۳- تهیه نمونه از درختان مشکوک :

- از قسمتهای علائم دار درختان مشکوک (قبلاً به علائم آنها اشاره گردید)، شاخه های به طول حدود ۲۰ - ۱۵ سانتی متری همراه با برگ ( هر درخت ۳ شاخه) به عنوان نمونه گرفته شود.

به دلیل اینکه وجود علائم بیماری روی میوه در ردیابی و تشخیص بیماری موثر بوده و نسبت به علائم شاخ و برگ، شاخص تر است؛ لذا از هر درخت مشکوک دو عدد میوه با علائم تیپیک بیماری جمع آوری گردد. لازم به یادآوری است که غلظت باکتری در میوه ها ، بالا نیست بنابراین لازم است میوه ها همراه شاخ و برگ جمع آوری شوند.

- درختانی که از آنها نمونه تهیه می شود بایستی علامت گذاری شده و محل آنها به کمک GPS ثبت گردد. قابل ذکر است که درختی با علائم محدود به چند شاخه ، نسبت به درختی که تمام شاخه های آن دارای علائم است، در نمونه برداری، ارجحیت دارد.

### ب- در مناطقی که تا بحال عاری از پسیل گزارش شده اند:

۱- جمع آوری اطلاعات لازم شامل ارقام درختان ، سن درختان، نوع پایه ، محل تهیه پیوندک، عملیات باغبانی، دفع آفاتی، نوع تغذیه، آبیاری و...

۲- بازرسی درختان از نظر وجود پسیل و جمع آوری حشرات مشکوک به شرح ذیل:

**حشره بالغ :** موقع تحریک می پرد و ممکن است تا فاصله کوتاهی پرواز کند. حشرات کامل معمولاً به تعداد زیاد در سطح زیرین برگها، درحالیکه سرشان تقریباً به سطح برگ چسبیده و بدنشان تقریباً با یک زاویه بین ۳۰ تا ۴۵ درجه قرار دارد ، یافت می شوند. بیشترین دوره فعالیت پسیل با دوره رویشهای جدید در مرکبات مطابقت می کند. برخلاف بسیاری از انواع پسیل های دیگر، هیچ گونه گال یا فرورفتگی روی برگها ایجاد نمی کند. پوره ها بطور کامل روباز هستند (پوره های *T. erytrae* پسیل آفریقایی مرکبات تا اندازه ای در حفره محصورند).

حشرات کامل پسیل آسیایی مرکبات راحت ترین مرحله قابل مشاهده هستند. در این مرحله پسیل ۴- ۳ میلیمتر طول دارد. بالها دارای نوارهای مشخصی روی نوک یا قاعده بوده که از نمای جانبی یک طرح X شکل مسطح به حشره می دهد. حشرات بالغ در صورت تحریک شدن بسهولت می جهند. لذا، بهتر است برای جمع آوری آنها یا از اسپراتور استفاده شود و یا همه شاخه انتهایی در کیسه ای قرار داده شود. راه دیگر جمع آوری نمونه در شرایط عادی این است که یک لوله آزمایش خالی را بطور وارونه بالای شاخه آلوده قرار داده، کلنی آنها را روی شاخه تحریک نماییم. به این ترتیب حشرات کامل بداخل لوله پریده و در آن جمع می شوند.

**پوره :** جهت ردیابی پوره ها با توجه به اینکه اغلب روی رشد های جدید درخت، دیده می شوند لازم است انتهای شاخه های جدید مورد بررسی قرار گیرند. این پوره ها به سختی دیده می شوند، بدن مسطحی داشته و مایلند خودشان را در اطراف جوانه هایی که از آن تغذیه می کنند، پنهان نمایند.

از نظر ظاهری شبیه به حشرات سپردار بوده و رنگشان ممکن است سبز یا نارنجی باشد، اما، بر خلاف سپرداران دارای غلاف های بالی بزرگی هستند.

تخم ها، زرد روشن یا نارنجی و شبیه یک توپ نوکدار بوده که از یک طرف به بافت گیاه می چسبند. تخم ها روی رشد های تازه پرماند گذاشته شده و بدون عدسی دستی به سختی دیده می شوند.

۳- تهیه نمونه از درختان مشکوک (طبق شرح بند الف-۲ فوق).

### ❖ نحوه ارسال نمونه

نمونه ها (شاخه های حدود ۲۰ - ۱۵ سانتی متری همراه با برگ) را درون پاکت نایلونی قرار داده و پس از خارج کردن هوای پاکت، درب آن محکم بسته شود. روی پاکت نام منطقه ، نام صاحب باغ، شماره درخت ، رقم درخت ، و تاریخ نمونه برداری درج گردد. نمونه ها در جای خنک مثلاً درون یخدان نگهداری و به آزمایشگاه مورد نظر ارسال گردد. نمونه ها نباید فریز شوند.

نمونه های میوه باید درون پاکت کاغذی قرار داده شده و روی پاکت ، مشخصات گفته شده درج شود. نمونه های میوه نبایستی به تنهایی و بدون نمونه هایی از برگهای همان درخت، ارسال شوند.

## تصاویری از علائم بیماری و حشره ناقل ( *Diaphorina citri* )

(تصاویری از دوره های مختلف سنی پسیل مرکبات و علائم خسارت آن)





(تصاویری از علائم بیماری میوه سبز مرکبات شامل: ریزش برگ، ماتلینگ، عدم تقارن میوه، گل دهی خارج از فصل، سیاه و عقیم شدن هسته، زردی و زوال)







پایان