بیماری لکه برگی و نکروز باکتریایی موز

مجید امانی[1*] ، نادر حسن‌زاده[2] و سعید رضائی[3]

۱- دانشجوی دکتری بیماری‌شناسی گیاهی، موسسه تحقیقات خرما و میوه‌های گرمسیری، اهواز

۲- دانشیار بیماری‌شناسی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

۳- استادیار بیماری‌شناسی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

تاریخ دریافت : ۱۳۹۰/۱۰/۲۷ **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۰/۱۲/۲۱

امانی، م.، حسن‌زاده، ن. و رضائی، س. ۱۳۹۰. بیماری لکه برگی و نکروز باکتریایی موز. دانش بیماری‌شناسی گیاهی ۱(۱): ۳۳-۲۷.

چکیده

موز یکی از میوه‌های مهم مناطق گرم و مرطوب است، که در زیر پوشش پلاستیک در استان‌های مازندران و گلستان پرورش داده می‌شود. از این استان‌ها بیماری لکه برگی و نکروز باکتریایی موز گزارش شده است. نشانه‌های این بیماری لکه‌های نکروزه روی برگ‌های مرکزی و جوان درخت است، که با گسترش آن‌ها و پوسیدگی کامل برگ‌های آلوده، رشد و تولید محصول گیاه متوقف می‌شوند. عامل بیماری باکتری *Xanthomonas campestris* pv. *musacearum* ، با کلنی زرد لعاب‌دار، گرم منفی، غیرفلورسانت، اکسیداز منفی و کاتالاز مثبت است. بیماری‌زایی باکتری با مایه‌زنی آن روی برگ‌های موز قابل اثبات است. نشانه‌های کامل بیماری، روش‌های نمونه‌برداری، جداسازی و اثبات بیماری‌زایی باکتری و مدیریت بیماری شرح داده شده‌اند.

واژه‌های کلیدی: باکتری، لکه برگی، موز، نکروز، *Xanthomonas*

* مسئول مکاتبه، پست الکترونیک : Majidamani2000@yahoo.com

مقدمه

موز (*Musa acuminata* L.) یکی از درختان میوه مناطق گرم و مرطوب است، که از طریق پاجوش تکثیر می‌شود. این گیاه تک‌لپه‌ای، از راسته *Zingiberales* و تیره *Musaceae* است و در ۱۲۰ کشور جهان کشت می‌گردد. منشاء آن جنوب شرقی آسیا، هند و چین، بوده و از آنجا به قاره‌های آمریکا و اقیانوسیه برده شده است (امانی، ۱۳۸۱).

بیماری نکروز و لکه برگی باکتریایی (Bacterial necrotic & leaf spot) از بیماری‌های مهم موز است، که بر اثر باکتری *Xanthomonas campestris* pv. *musacearum* (Yirgou & Bradbury 1968) Dye 1978 ایجاد می‌شود (Tushemereirwe *et al*., 2004). نشانه‌های این بیماری اولین بار در سال ۱۹۴۰ در اتیوپی روی موزهای انست (Ensete) مشاهده شد. پس از آن در تمام مناطق موزکاری اتیوپی پراکنده شده و اکنون تقریباً انتشار جهانی دارد (Jones, 2000). در ایران، این بیماری، اولین بار در سال ۱۳۸۳، در موزکاری‌های زیر پوشش پلاستیک استان‌های مازندران و گلستان، در حومه شهرستان‌های ساری، بابل، قائم‌شهر، نکا و گرگان مشاهده گردیده و در سال ۱۳۸۵ گزارش شده است (امانی و همکاران، ۱۳۸۵).

۱- نشانه‌های بیماری

نشانه‌های بیماری در ابتدا به صورت نقاط و لکه‌های مدور تا کشیده نکروزه و قهوه‌ای رنگ روی برگ مرکزی و یکی از برگ‌های مجاور ظاهر می‌شود. تحت شرایط گرم و مرطوب این لکه‌ها بتدریج گسترش یافته، برگ‌های جوان بدشکل و نکروزه شده و با پیشرفت بیماری برگ‌های مسن پژمرده و خشک می‌شوند که در مواردی منجر به خشکی کامل می‌گردد (شکل۱). نشانه بیماری درون بافت گیاه نیز به صورت تغییر رنگ دسته‌های آوندی است. در مقطع عرضی بافت آوندی نیز ترشحات لزج و لعاب‌دار باکتری دیده می‌شود (امانی و همکاران، ۱۳۸۵).

۲- روش نمونه‌برداری و جداسازی باکتری

پس از بازدید از موزکاری‌های زیر پوشش پلاستیک، با مشاهده نشانه‌های بیماری، بافت برگ و دم‌برگ‌های

شکل۱- نشانه‌های بیماری لکه برگی و نکروز باکتریایی موز، **الف**- لکه‌های ظاهر شده روی برگ‌ها، **ب**- پوسیدگی و خشکیدگی دم‌برگ‌های مرکزی.

درختان دارای نشانه‌های لکه برگی، نکروز و پوسیدگی و یا مشکوک به آلودگی، جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل می‌شوند. در آزمایشگاه نمونه‌ها پس از شستشو با آب، به مدت ۳-۲ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد قرار داده می‌شوند و سپس با آب مقطر سترون شستشو می‌گردند. یک تا ۳ بافت لکه از هر نمونه انتخاب و در نیم میلی‌لیتر آب مقطر سترون خرد می‌شود. یک قطره از سوسپانسیون حاصل با یک لوپ سترون روی محیط آگار غذایی (NA) مخطط می‌گردد (Tripathi *et al.,* 2007). پس از ۳ تا ۵ روز نگهداری در دمای ۲۵°C، کلنی‌های برجسته، شفاف و زرد رنگ باکتری انتخاب می‌شوند و با انتقال به محیط آگار غذایی به همراه ساکارز (SNA) خالص می‌شوند. برای شناسایی دقیق باکتری، کلنی خالص آن روی محیط King's B medium (KB) نیز کشت می‌شود. کلنی باکتری به آب مقطر سترون منتقل می‌شود و برای آزمایش‌های بعدی در دمای ۴°C در یخچال نگهداری می‌شود.

۳- خصوصیات باکتری

خصوصیات باکتری بعد از ۳-۲ روز رشد کلنی خالص آن در دمای ۲۵°c روی محیط آگار غذایی به همراه ساکارز (SNA) بررسی می‌شود. رنگ‌آمیزی گرم به روش شاد و همکاران (Schaad *et al.*, 2001)، آزمون هوازی و بی‌هوازی به روش هیوج و لیفسون (Hugh & Leifson, 1953) ، آزمون فوق حساسیت در شمعدانی به روش کلمنت و همکاران (Kelment *et al.*, 1964)، آزمون اکسیداز به روش کواکس(Kovacs, 1956)، آزمون‌های کاتالاز، تولید لوان، احیاءنیترات، رشد روی نمک‌طعام، هیدرولیز اسکولین، تولید پکتین‌آز، اوره‌آز، آرجی‌نین‌دی‌هیدرولاز، فسفاتاز، بتاگلوکوسیداز، ذوب ژلاتین، تولید سولفید هیدروژن از پپتون به روش شاد و همکاران

(Schaad *et al.*, 2001)، آزمون هیدرولیز نشاسته، به روش گراهام و هودکیس (Graham & Hodgkiss, 1967) و آزمون‌های هیدرولیز توئین ۸۰ و ۲۰ با روش مک‌فادین (MacFaddin, 1980) انجام می‌شود. خصوصیات این باکتری در جدول ۱ آورده شده است.

این باکتری میله‌ای شکل، گرم منفی، هوازی، با کلنی‌های زرد رنگ، کاتالاز مثبت و اکسیداز منفی است، ولی قادر به احیاء نیترات نیست. در محیط کشت KB نیز قادر به تولید فلورسانت نیست. از قندهای ترهالوز، فروکتوز و سلوبیوز، اسید تولید می‌کند. براساس این خصوصیات تعلق آن به جنس *Xanthomonas* شناسایی می‌شود. بر مبنای استفاده آن از ترهالوز، دکسترین، ال- آلانین، اسید گلوتامیک و اسید سوکسینیک و عدم استفاده از اسیدهای فرمیک، والریک و گلوکورونیک گونه و با اثبات بیماری‌زایی روی موز نام علمی آن (*X. campestris* pv. *musacearum*) تشخیص داده می‌شود (Tushemereirwe *et al*., 2004).

۴- روش اثبات بیماری‌زایی باکتری

برای اثبات بیماری‌زایی باکتری، سوسپانسیونی از کشت تازه آن با غلظت $۱۰^{۶}$ cfu/ml تهیه می‌گردد و روی برگ‌های موز رقم حساس دوارف کاوندیش، پس از ایجاد زخم، مایه‌زنی می‌شوند. گیاهان شاهد نیز به همین روش، به وسیله آب مقطر سترون مایه زنی می‌شوند. نمونه‌های شاهد و مایه‌زنی شده در شرایط گلخانه با دمای ۲۵°C نگه‌داری می‌گردند. دو تا ۵ روز پس از مایه‌زنی، لکه‌های آب سوخته‌ای به قطر ۲-۱ میلی‌متر در اطراف محل‌های زخم شده برگ، ظاهر می‌شود. لکه‌ها مدور تا کشیده، در وسط نکروز و قهوه‌ای رنگ شده و به تدریج گسترش می‌یابند، با گسترش و به‌هم پیوستن لکه‌ها، اغلب برگ‌های مبتلا بدشکل، پژمرده و خشک می‌شوند. اکثر لکه‌ها در محل‌های زخم شده برگ تولید می‌شوند ولی تعدادی در لبه و قسمت‌های سالم برگ نیز تشکیل می‌گردند. در بوته‌های شاهد فقط قسمت‌های زخم شده برگ کمی نکروزه می‌شوند. پس از بروز این نشانه‌ها در برگ‌های مایه‌زنی شده، باید باکتری مجدداً از بافت‌های بیمار جداسازی و شناسایی شود (Yirgo & Bradbury, 1968).

۵- نتیجه

بیماری نکروز و لکه برگی باکتریایی یک بیماری مهم موز در استان‌های مازندران و گلستان است (امانی و همکاران، ۱۳۸۵). بیماری همراه با پاجوش‌ها و بقایای گیاهی آلوده منتقل و منتشر می‌شود. بنابراین برای

جدول۱- خصوصیات باکتری *Xanthomonas campestris* pv. *musacearum* عامل لکه برگی و نکروز موز

آزمون	واکنش
هوازی اجباری	+
واکنش گرم	-
احیاء نیترات	-
فوق حساسیت در شمعدانی	+
کاتالاز	+
فسفاتاز	+
هیدرولیز نشاسته	+
هیدرولیز توئین ۲۰ و۸۰	+
رشد روی نمک طعام ۱ و ۲٪	+
تولید اکسیداز	-
تولید اوره‌آز	-
پکتین‌آز	-
آرجی نین دهیدرولاز	-
استفاده از: ترهالوز	+
دکسترین	+
آرژنین	+
د- آلانین	+
ال- آلانین	+
آسپارتات	+
استات	+
تارتارات	+
سوربیتول	-
زایلیتول	-
اتانول	-
پروپانول	-
اسید سوکسینیک	+
اسید گلوتامیک	+
اسید والریک	-
اسید فرمیک	-
اسید گلوکورونیک	-
اثر روی شیر لیتموس	قلیایی
بیماری‌زایی روی موز	+

+ : واکنش مثبت - : واکنش منفی

پیش‌گیری از انتشار این بیماری به سایر نقاط کشور، باید با رعایت مقررات قرنطینه‌ای از انتقال پاجوش‌های آلوده و بدون گواهی سلامت به مناطق دیگر جلوگیری شود. در مناطقی که بیماری شایع است، حذف و سوزاندن بقایای درختان پوسیده و خشک شده، حذف جوانه‌های گل نر پس از گل‌دهی، ضدعفونی دست‌ها و ابزار باغبانی از قبیل اره و قیچی، در هنگام هرس و برداشت محصول با محلول وایتکس ۱۰٪ و محلول‌پاشی سموم مسی از قبیل اکسی‌کلرور مس و یا مخلوط بردو در کاهش خسارت بیماری می‌تواند موثر باشد. استفاده از پاجوش سالم و یا تکثیر شده از طریق کشت بافت و کلون‌های مقاوم برای کاشت، تناوب ۳-۲ ساله، حذف و ریشه‌کنی درختان بیمار، رعایت نکات بهداشتی در هنگام هرس و برداشت محصول، محلول‌پاشی سموم مسی، رعایت فاصله بهینه کشت و آبیاری به روش قطره‌ای برای مدیریت این بیماری توصیه شده است (Jones, 2000).

منابع

امانی، م. ۱۳۸۱. کاشت و پرورش موز در ایران. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ۱۶۸ ص.

امانی، م. ، حسن‌زاده، ن. و قاسمی، ا. ۱۳۸۵. جداسازی باکتری *Xanthomonas campestris* عامل بیماری لکه برگی باکتریایی موز در استان مازندران. خلاصه مقالات هفدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران،کرج، ص ۳۲۹.

Graham, D. C. & Hodgkiss, W. 1967. Identity of gram negative, yellow pigmented fermentative bacteria isolated from plants and animals. *J. Appl. Bacteriol.* 30: 175-189.

Hugh, R. & Leifson, E. 1953. The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various gram-negative bacteria. *J. Bact.* 66: 24-26.

Jones, D. R. 2000. Diseases of Banana, Abaca and Enset. CAB International,UK,544 p.

Kelment, Z., Farkas, G. L. & Lovrekovich, H. 1964. Hypersensitivity reaction induced by phytopaogenic bacteria in the tobacco leaf. *Phytopathology* 54:474-477.

Kovacs, N. 1956. Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the oxidase reaction. *Nature* 178:703.

Mac Faddin, J. F. 1980. Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria, 2nd ed.: Williams & Wilkins, Baltimore,USA,115p.

Schaad, N. W., Jones, J. B. & Chun, W. 2001. Laboratory Guid for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. 3rd ed. APS Press, MN,USA,373p.

Tripathi, L., Tripathi, J. N., Tushemereirwe, W. K., & Bandyopadhyay, R. 2007. Development of a semi-selective medium for isolation of *Xanthomonas campestris* pv. *musacearum* from banana plants. *Eur. J. Plant Pathol.* 117:77-186.

Tushemereirwe, W., Kangire, A., Ssekiwoko, F., Offord, L. C., Crozier, J., Boa, E., Rutherford, M. & Smith, J. J. 2004. First report of *Xanthomonas campestris* pv. *musacearum* on banana in Uganda. *New Disease Reports* 9:39.

Yirgo, D. & Bradbury, J. F. 1968. Bacterial wilt of enset (*Ensete ventricosum*) incited by *Xanthomonas musacearum* sp. n. *Phytopathology* 58:111-112.