شناسایی باکتری عامل سوختگی برگ و غلاف لوبیا در استان مرکزی

محمدرضا لک[۱]، مسعود شمس‌بخش[۲] و مسعود بهار[۳]

چکیده

طی تابستان سال ۱۳۷۷ بیماری سوختگی برگ و غلاف لوبیا در مزارع لوبیای اطراف اراک مشاهده گردید. بررسی‌های سال بعد نشان داد که شیوع بیماری در مزارع لوبیاکاری استان مرکزی روند افزایشی دارد، و به نظر می‌رسد که خسارت آن در مزارع مجهز به سیستم آبیاری بارانی بیشتر است. علایم بیماری شامل لکه‌های سوخته نامنظمی روی برگ‌ها بود، که با هاله زردرنگی احاطه شده بودند. در شرایط مساعد این لکه‌ها به تدریج گسترش یافته و برگ‌های مبتلا سوخته شدند. علایم اولیه بیماری روی غلاف‌های لوبیا به صورت لکه‌های آب‌سوخته دیده شد، که بعداً این لکه‌ها به رنگ قرمز تا تیره درآمدند. از اندام‌های آلوده لوبیا دو نوع باکتری با کلنی‌های زردرنگ، برجسته و شفاف به دست آمد. بر پایهٔ مشخصات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی، نوع غالب باکتری جدا شده از بوته‌های مریض ***Xanthomonas axonopodis*** **pv.** ***phaseoli*** *شناسایی شد، و باکتری نوع دیگر با ویژگی‌های مشابه، تنها به دلیل تولید ملانین در محیط کشت، به عنوان* ***X. axonopodis*** **pv.** ***phaseoli*** **var.** ***fuscans*** *تعیین گردید.*

واژه‌های کلیدی: *لوبیا، Xanthomonas، باکتری، سوختگی*

مقدمه

لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) میزبان طبیعی بسیاری از باکتری‌های بیماری‌زای گیاهی می‌باشد. این دسته از عوامل بیماری‌زای گیاهی ممکن است باعث ایجاد لکه‌برگی، لکه‌خطی، سوختگی، پژمردگی، گال طوقه، پوسیدگی و آتشک در انواع لوبیا گردند (۱۲).

در میان بیماری‌های باکتریایی لوبیا سه بیماری از اهمیت بیشتری برخوردار است، که عبارتند از: سوختگی معمولی (common blight)، سوختگی هاله‌ای (halo blight) و لکه قهوه‌ای باکتریایی (bacterial brown spot) که به ترتیب توسط

۱. کارشناس ارشد گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات کشاورزی استان مرکزی
۲. استادیار گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز
۳. استادیار گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1381.6.1.12.9]

Pseudomonas Xanthomonas axonopodis pv. *phaseoli* و *savastanoi* pv. *phaseolicola* *P. syringae* pv. *syringae* ایجاد می‌گردند (۵).

این بیماری‌ها از بیشتر مناطق کشت لوبیا در سراسر جهان گزارش شده‌اند (٤). این بیماری‌ها در مزرعه علایم مشابهی به وجود می‌آورند، و در اکثر موارد تشخیص آنها از یکدیگر مشکل است، و تماماً به صورت مشابهی به برگ‌ها، غلاف‌ها، ساقه‌ها و بذرها آسیب وارد می‌کنند (۱).

در تمام این بیماری‌ها علایم ابتدا به صورت لکه‌های کوچک آب‌سوخته در برگ‌ها ظاهر می‌شوند. لکه‌ها بزرگ شده، به هم پیوسته و تشکیل نواحی بزرگ مرده می‌دهند. در سوختگی هاله‌ای، ناحیه هاله مانندی به رنگ سبز مایل به زرد در خارج از ناحیه آب‌سوخته به وجود آمده، و به برگ‌ها ظاهر زردرنگی می‌دهد. در سوختگی معمولی و لکه قهوه‌ای، نقاط آلوده به تدریج گسترش یافته و باعث سوختگی قسمت زیادی از سطح برگ می‌شوند، که این لکه‌ها توسط هاله زردرنگی احاطه می‌گردند. تراوش‌های باکتریایی روی لکه‌ها، در شرایط مرطوب در بیماری سوختگی معمولی به رنگ زرد، و در سوختگی هاله‌ای و لکه قهوه‌ای کرم کم‌رنگ است (۱). علایم هر سه بیماری فوق روی ساقه به شکل لکه‌های آب‌سوخته و گاهی فرو رفته نمایان شده، و به صورت طولی گسترش می‌یابند. سپس این لکه‌ها به رنگ قهوه‌ای در می‌آیند، که اغلب در سطح شکافته شده و تولید تراوش‌های حاوی باکتری می‌کنند. روی غلاف‌ها نیز لکه‌های کوچک آب‌سوخته دیده می‌شود، که این لکه‌ها نیز سوخته شده به رنگ قرمز تا تیره در می‌آیند. غالباً سیستم آوندی در اطراف غلاف آلوده می‌گردد، و بافت‌های مجاور آب‌سوخته شده، منتج به آلودگی بذر از محل اتصال بند آن با غلاف می‌شود. چنانچه بذرها در آغاز تشکیل شدن آلوده شوند، از بین خواهند رفت، ولی آلودگی پس از این مرحله باعث چروکیدگی و تغییر رنگ بذر می‌گردد (٤).

در سال ۱۳۷۷ بیماری سوختگی برگ و غلاف لوبیا برای نخستین بار در مزارع لوبیای استان مرکزی مشاهده گردید. علایم این بیماری با هیچ کدام از بیماری‌های گزارش شده قبلی از لوبیا در ایران مطابقت نداشت. بررسی‌های مقدماتی نشان داد که این بیماری منشأ باکتریایی دارد. بنابراین، ضروری به نظر رسید که باکتری عامل بیماری شناسایی شود، تا در آینده با انجام پژوهش‌های تکمیلی، روش‌های پیش‌گیری و مبارزه با بیماری حاصل گردد.

مواد و روش‌ها

بازدید مزارع

طی سال‌های ۱۳۷۷ و ۱۳۷۸ بارها از مزارع لوبیا در مناطق مختلف استان مرکزی بازدید به عمل آمد. در هنگام بازدیدها، بوته‌های انواع لوبیا از نظر وجود سوختگی برگ و غلاف لوبیا مورد بررسی قرار گرفت، و از علایم روی بوته، نوع گیاه و میزان تقریبی خسارت در هر مزرعه یادداشت‌برداری گردید. طی این بررسی‌ها هم‌بستگی نحوه آبیاری مزرعه و شدت وقوع بیماری نیز مورد توجه بود. در تمام موارد بازدید، از نمونه‌های مبتلا به سوختگی برگ و غلاف لوبیای هر مزرعه شماری نمونه جمع‌آوری، و در داخل کیسه‌های پلاستیکی به آزمایشگاه منتقل شد.

جداسازی عامل بیماری

از بوته‌های آلوده هر مزرعه دو برگ و دو غلاف با علایم مشخص بیماری انتخاب گردید. اندام‌های مبتلا نخست در جریان ملایم آب و سپس به وسیله آب مقطر استریل شسته شده، و قطعاتی حدود یک سانتی‌متر مربع شامل قسمت سالم و آلوده بافت مورد نظر به طور جداگانه درون لوله‌های آزمایش محتوی پنج میلی‌لیتر آب مقطر استریل قرار داده شد. پس از ۲۰ تا ۳۰ دقیقه، یک لوپ از سوسپانسیون به دست آمده روی محیط کشت آگار مغذی همراه با ۰/۵ درصد عصاره مخمر (Nutrient Agar Yeast=NAY) به صورت مخطط کشت، و محیط‌های کشت در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از سه روز، شکل ظاهری کلنی‌های باکتریایی در هر محیط

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1381.6.1.12.9]

کشت بررسی و تک کلنی‌های غالب برگزیده و خالص‌سازی گردیدند. از کشت خالص شده باکتری‌ها، که به مدت ۳۶ ساعت روی محیط NAY رشد کرده بودند، یک لوپ برداشته شد و به لوله‌های محتوی پنج میلی‌لیتر آب مقطر استریل اضافه گردید. این جدایه‌ها پس از ثبت مشخصات باکتری و میزبان آن، به منظور استفاده‌های بعدی در یخچال نگهداری شدند.

آزمون اثبات بیماری‌زایی

دانه‌های لوبیا چیتی رقم تلاش، لوبیا سفید رقم دانشکده، و لوبیا قرمز لاین D-۸۱۰۸۳، که از ایستگاه تحقیقات لوبیا در شهرستان خمین تهیه گردیده بود، پس از ضدعفونی سطحی با قارچ‌کش مانکوزب، در گلدان‌های پلاستیکی حاوی خاک شنی-رسی کاشته شدند. پس از دو هفته رشد در شرایط گلخانه و ظهور برگ‌های حقیقی، سه برگچه دوم بوته‌ها به وسیله جدایه‌های باکتریایی مورد نظر مایه‌زنی شدند. برای مایه‌زنی گیاهان، از کشت ۲۴ ساعته جدایه‌های باکتریایی روی محیط NAY استفاده گردید. به این منظور، مقداری از کشت‌های باکتریایی در آب مقطر استریل به صورت سوسپانسیون درآمد، که مقدار سلول‌های باکتریایی زنده آن به روش کشت رقیق کردن متوالی (serial dilution) حدود 10^{8}-10^{9} واحد تشکیل دهنده کلنی در میلی‌لیتر (cfu/ml) برآورد شد.

مایه‌زنی روی بوته‌ها به دو روش انجام گردید. در روش نخست برگ‌های انتخاب شده برای مایه‌زنی به وسیله سوزن استریل زخمی و سوسپانسیون باکتری روی آن پاشیده شد. در روش دوم سوسپانسیون باکتری به وسیله سرنگ به برگ‌ها تزریق گردید. برابر هر دو روش، بوته‌هایی به عنوان شاهد با آب مقطر استریل مایه‌زنی شدند. بوته‌های مایه‌زنی شده به منظور حفظ رطوبت به مدت ۷۲ ساعت زیر پوشش پلاستیکی قرار گرفتند. گیاهان مزبور از نظر ایجاد واکنش در برابر مایه‌زنی با جدایه‌های باکتریایی ارزیابی روزانه گردیدند. در صورت بروز علایم بیماری، جداسازی عامل بیماری از برگ‌های این بوته‌ها به روش قبلی تکرار می‌شد.

آزمون‌های بررسی ویژگی‌های فنوتیپی

ویژگی‌های مورفولوژیک

از کلنی‌های ۲۴ ساعت رشد یافته هر جدایه باکتری روی محیط کشت آگار مغذی برای رنگ‌آمیزی گرم و تاژک (۱۱) و واکنش در مقابل KOH (۱۳) استفاده شد. برای تعیین توان تولید ملانین توسط جدایه‌های باکتریایی از محیط کشت NA، که به ازای هر لیتر آن ۶۰۰ میکروگرم اسید آمینه تیروزین اضافه شده بود، استفاده گردید (۱۴). برای تعیین وجود یا عدم وجود رنگ‌دانه‌های فلورسین محیط کشت King-B، و برای مشاهدهٔ تولید لوان محیط آگار غذایی به اضافه پنج درصد ساکارز به کار رفت (۱۱).

ویژگی‌های فیزیولوژیک

برای آزمون تحریک فوق حساسیت در توتون و شمعدانی، یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتریایی حاوی 10^{8}-10^{9} cfu/ml در پارانشیم تحتانی برگ‌های توتون و شمعدانی تزریق شد (۸). فعالیت پکتولیتیک جدایه‌های باکتریایی، حداکثر دمای رشد، و درصد تحمل نمک به روش‌های توصیه شده تعیین گردید (۱۱).

ویژگی‌های بیوشیمیایی

آزمون‌های رشد هوازی و بی‌هوازی به روش هیو و لایف‌سن (۶)، اکسیداز به روش کواکس (۱۱) و کاتالاز به روش دای (۳) انجام شد. با افزودن ۰/۲ درصد نشاسته و ۰/۴ درصد ژلاتین به محیط آگار غذایی، هیدرولیز نشاسته و ژلاتین توسط جدایه‌های باکتریایی بررسی گردید (۱۱). هیدرولیز لیپاز و اسکولین با استفاده از محیط حاوی ۰/۵ درصد توین هشتاد و یک درصد اسکولین، و هیدرولیز کازئین با محیط حاوی شیر خشک بدون چربی صورت گرفت (۱۱). آزمون اوره‌آز به وسیله محیط پایه توصیه شده، که به آن دو درصد اوره افزوده شده بود، انجام شد (۱۱). از محیط ترنلی (Thornley) برای آزمون آرژنین دی هیدرولاز استفاده گردید (۱۱). برای آزمون‌های تولید آمونیاک،

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1381.6.1.12.9]

گاز هیدروژن سولفوره، اندول و مواد احیا کننده از ساکارز از محیط پایه آب پپتونه، و برای معرف‌ها به ترتیب از معرف‌های نسلر، نوار آغشته به سرب، کواکس و بندیکت استفاده شد (۷). برای آزمون متیل‌رد و تولید استوئین محیط کشت آماده MR-VP به مقدار دو درصد در آب مقطر تهیه، و سه روز پس از مایه‌زنی جدایه‌ها به محیط‌های کشت، با افزودن معرف‌های مربوطه واکنش‌ها بررسی گردید (۳). تولید زانتومونادین، احیای نیترات و آزمون لستیناز بر پایهٔ روش‌های توصیه شده توسط لیلیوت انجام گرفت (۹). تولید اسید از قندها با کاربرد محیط پایه آیر و همکاران بررسی شد (۱۱).

نتایج و بحث

بررسی مزارع

نخستین بار در سال ۱۳۷۷ بیماری سوختگی برگ و غلاف لوبیا در یک مزرعه لوبیا چیتی در دهستان مشک‌آباد، در ۲۰ کیلومتری شرق شهرستان اراک، که با سیستم آبیاری بارانی آبیاری می‌شد، مشاهده گردید. پس از حدود دو هفته مزارع لوبیا سفید و لوبیا قرمز که در همسایگی مزرعه لوبیا چیتی مزبور قرار داشتند نیز به بیماری آلوده شدند. این آلودگی بیشتر به صورت تظاهر بیماری در چند بوته در قسمتی از مزرعه مشاهده شد، که طی گذشت زمان به دیگر قسمت‌های مزرعه گسترش یافت. توسعه بیماری در هر سه مزرعه تقریباً یکسان بود، و حدود ٦٠ تا ۷۰ درصد محصول در اثر این بیماری کاملاً از بین رفت. در این سال با بررسی مزارع لوبیای اطراف شهرستان اراک، و نیز با پرسش از کارشناسان مراکز خدمات کشاورزی استان مرکزی آثار بروز بیماری در مزارع دیگر یافت نشد. در سال بعد بجز مزارع لوبیا واقع در دهستان مشک‌آباد، مزارع لوبیا چیتی، لوبیا سفید و لوبیا قرمز در بخش‌های دیگری از حومه شهرستان اراک و مزارع لوبیا چیتی شهرستان خمین نیز جزو مناطق آلوده به بیماری ثبت گردید. این موضوع نشان دهندهٔ گسترش سریع بیماری در استان مرکزی می‌باشد، و می‌تواند تهدید جدی برای مزارع لوبیای این استان، که یکی از استان‌های مهم کشت لوبیا در کشور است، باشد.

میزان وقوع بیماری در تمام مزارعی که با سیستم بارانی آبیاری می‌شدند بسیار بالا بود، و بیش از ۵۰ درصد محصول در اثر بیماری از بین رفت. علایم بیماری سوختگی برگ و غلاف در برخی مزارع لوبیا در دهستان میلاجرد نیز دیده شد. در این منطقه، که مزارع لوبیا به روش غرقابی آبیاری می‌شوند، علایم بیماری به صورت نقاط کوچک و پراکنده و گاهی روی تک‌بوته‌ها مشاهده گردید. نقاط آلوده به بیماری در مزرعه گسترش چندانی نداشتند و بیشتر بوته‌های بیمار تا پایان فصل رشد زنده باقی مانده و تولید غلاف و بذر نمودند. در این مزارع آلودگی ۳-۵ درصد برآورد شد. با توجه به این که اختلاف زیادی در میانگین دمای روزانه هوای مناطق مورد بازدید، طی دوران رشد لوبیا وجود نداشت، بنابراین وجود رطوبت زیاد در مزارع آبیاری شده با سیستم آبیاری بارانی می‌تواند یکی از دلایل اصلی گسترش بیماری در این گونه مزارع باشد. نقش رطوبت در توسعه بیماری سوختگی باکتریایی لوبیا از دیگر نقاط دنیا نیز گزارش شده است (۲، ۱۲ و ١٦).

در تمام موارد بررسی علایم بیماری سوختگی روی برگ‌های لوبیا مشاهده گردید، که شامل نقاط آب‌سوخته کوچک و پراکنده در برگ‌های حقیقی لوبیا بود. این نقاط به تدریج گسترش یافته و به لکه‌های سوخته بزرگ‌تری تبدیل شدند، که توسط هاله زردرنگی احاطه می‌گردیدند. لکه‌ها در کنار و یا در متن برگ قرار داشتند، و اغلب بیش از یک لکه روی یک برگ وجود داشت (نگاره ۱). لکه‌های سوخته روی برگ‌ها به اشکال غیر منظم بوده و در شرایط مساعد به هم پیوستگی لکه‌ها منجر به سوختگی تمام برگ می‌شد. در آلودگی‌های شدید برگ‌های مرده روی گیاه باقی می‌ماندند (نگاره ۲). علایم بیماری روی ساقه‌ها به صورت لکه‌های آب‌سوخته ظاهر می‌شد، که سپس به رنگ قهوه‌ای درآمده و طولی گسترش می‌یافت. لکه‌ها معمولاً در محل گره‌های ساقه تشکیل شده و وجود علایم روی گره اول باعث شکسته شدن ساقه و افتادن بوته لوبیا می‌گردید (نگاره ۳).

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1381.6.1.12.9]

نگارهٔ ۱. علایم بیماری سوختگی برگ و غلاف لوبیا روی برگ

نگارهٔ ۲. آلودگی شدید مزرعه لوبیا چیتی به بیماری سوختگی برگ و غلاف لوبیا

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1381.6.1.12.9]

علایم اولیه بیماری روی غلاف‌های لوبیا نیز با نقاط آب‌سوخته کوچک همراه بود. سپس این نقاط به رنگ قرمز تیره تا تیره درآمدند. لکه‌ها معمولاً گرد و کمی فرو رفته بودند (نگاره ٤).

در مزارع با آبیاری بارانی، که شدت بیماری زیاد بود، تمام برگ‌ها و غلاف‌های بیشتر بوته‌ها در اثر بیماری سوخته، و دانه‌ای تشکیل نشد. در این مزارع، بوته‌هایی که دیرتر آلوده گردیدند، و هم‌چنین در مزارع لوبیای آلوده که به طریق غرقابی آبیاری شده بودند، گرچه دانه درون غلاف‌ها تشکیل شد، ولی این دانه‌ها کوچک، چروکیده و فاقد کیفیت مطلوب برای بازاریابی بودند. معمولاً روی پوشش دانه‌های لوبیا سفید که درون غلاف‌های آلوده به بیماری تشکیل می‌شدند، لکه‌های زرد یا قهوه‌ای دیده می‌شد که این لکه‌ها روی دانه‌های لوبیا چیتی و قرمز وجود نداشت، یا به سختی قابل تشخیص بود (نگاره ٥).

علایم بیماری در مزرعه در حدود نیمهٔ تابستان، ٦-٧ هفته پس از کاشت بذر (پس از گل‌دهی) در مزارع لوبیا آشکار می‌شد، و اثری از علایم بیماری در مرحله گیاهچه نبود. در برخی منابع علمی نیز ظهور علایم بیماری سوختگی باکتریایی لوبیا در مرحله زایشی رشد لوبیا گزارش گردیده، و دلایلی مانند کم بودن جمعیت باکتری در مرحله رویشی، حساسیت بیشتر مرحله زایشی لوبیا به بیماری و شرایط محیطی سازگار با گسترش بیماری در مرحله زایشی مورد تأکید قرار گرفته است (۱۷). به نظر می‌رسد نبود شرایط محیطی مناسب در طی دوران رشد رویشی لوبیا مانع فعالیت باکتری عامل بیماری سوختگی برگ و غلاف لوبیا در منطقه می‌گردد. البته اظهار نظر دقیق در این زمینه نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد.

جداسازی عامل بیماری

چهل و هشت ساعت پس از کشت برگ‌ها و غلاف‌های آلوده لوبیا در محیط کشت NAY، کلنی‌های زرد، محدب، شفاف و گرد با کنارهٔ صاف آشکار شدند، که معمولاً از تک کلنی‌های سفید و یا زردرنگ پهن و مسطح دیگر، که گاهی به طور اتفاقی در محیط کشت رشد می‌نمودند، مشخص بودند. گرچه کلنی‌های زرد شفاف اکثریت غالب کلنی‌های باکتریایی را شامل می‌شدند، ولی در بررسی‌ها مشخص گردید که در اثر نگهداری طولانی مدت کشت، بعضی از این کلنی‌ها رنگ‌دانه‌های تیره رنگی در محیط تولید می‌کنند که باعث قهوه‌ای شدن محیط کشت در اطراف محل رشد این کلنی‌ها می‌شود. در مجموع، از ۳۰ جدایه باکتریایی زرد به دست آمده از برگ‌ها و غلاف‌های مبتلا به سوختگی لوبیا، ۲۸ جدایه دارای کلنی‌های زرد شفاف، و دو جدایه کلنی‌های زرد تولید کننده رنگ‌دانه قهوه‌ای جداسازی و نگهداری شد. برای آسانی تفکیک جدایه‌ها، جدایه‌های واجد کلنی‌های زرد شفاف با کد XY، و جدایه‌های دارای کلنی‌های زرد با رنگ‌دانه قهوه‌ای با کد XB مشخص گردیدند.

اثبات بیماری‌زایی

تمام جدایه‌های باکتریایی به دست آمده از بوته‌های مبتلا به سوختگی برگ و غلاف لوبیا، بیماری‌زا بوده و علایمی شبیه به علایم مشاهده شده در مزرعه، روی بوته‌های لوبیای کشت شده در گلخانه ایجاد نمودند. علایم بیماری در روش تزریق سوسپانسیون باکتریایی زودتر دیده شد. در این روش، جدایه‌های XB حداقل پس از پنج روز باعث سوختگی در برگ‌ها شدند. طی این مدت جدایه‌های XY باعث ایجاد زردی در محل تزریق گردیدند، و پس از گذشت ۹ روز قسمت زرد شده به صورت سوخته درآمد. پس از گذشته چند روز، سوختگی ایجاد شده به وسیله هر دو نوع جدایه باکتریایی توسط هاله زردرنگی احاطه گردید. در روش محلول‌پاشی سوسپانسیون باکتریایی، جدایه‌های XB و XY به ترتیب حداقل پس از ۷ و ۱۰ روز زردی، و پس از ۱۳ و ۱۷ روز سوختگی در برگ‌های لوبیا به وجود آوردند. در هر دو روش، بوته‌هایی که به وسیله آب مقطر استریل مایه‌زنی شده بودند، هیچ گونه علایمی نشان ندادند.

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1381.6.1.12.9]

نگارهٔ ۳. علایم بیماری سوختگی برگ و غلاف لوبیا در ساقه

نگارهٔ ٤. علایم بیماری سوختگی برگ و غلاف لوبیا روی غلاف

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1381.6.1.12.9]

نگارهٔ ۵. مقایسه انواع دانه‌های آلوده لوبیا (پایین) با دانه‌های سالم (بالا)

ویژگی‌های فنوتیپی

ویژگی‌های مورفولوژیک

جدایه‌های XY و XB دارای سلول‌های میله‌ای شکل با یک تاژک قطبی بودند. این باکتری‌ها در برابر رنگ‌آمیزی گرم، واکنش منفی نشان دادند. چسبندگی و کش‌دار بودن سوسپانسیون این جدایه‌ها در برابر هیدروکسید پتاسیم سه درصد نیز این ارزیابی را تأیید نمود. تیره شدن کلنی‌های XB در محیط کشت حاوی تیروزین نشانه تولید ملانین در این جدایه‌ها بود. هیچ کدام از جدایه‌ها در محیط کینگ-ب (King-B) حالت فلورسانس نداشتند، ولی تولید کلنی‌های درشت و لعاب‌دار روی محیط محتوی ساکارز نشان داد که این جدایه‌ها لوان مثبت می‌باشند.

ویژگی‌های فیزیولوژیک

تزریق سوسپانسیون جدا شده‌های XY و XB در پارانشیم زیرین شمعدانی باعث سوختگی محل تزریق در کمتر از ۲۴ ساعت گردید. گرچه طی این مدت علایمی روی برگ‌های توتون دیده نشد، ولی پس از ۴۸ ساعت منطقه تزریق در برگ توتون به رنگ سبز روشن درآمد، و از روز سوم این ناحیه به تدریج زردرنگ شده و حالت سوختگی در آن پدید آمد. در این مدت برگ‌های تزریق شده با آب مقطر استریل هیچ گونه واکنشی نشان ندادند. بروز واکنش فوق حساسیت در شمعدانی، و حساسیت در توتون، به عنوان مشخصه‌های بیماری‌زایی جدایه‌های XY و XB ارزیابی گردید. در بررسی فعالیت پکتولیتیک، هیچ کدام از جدایه‌ها نتوانستند ورقه‌های سیب زمینی را له کنند. حداکثر دمای رشد جدایه‌های باکتریایی لوبیا ۳۸ درجه سانتی‌گراد، و بالاترین میزان تحمل نمک آنها ۲/۵ درصد بود.

ویژگی‌های بیوشیمیایی

جدایه‌های XY و XB در محیط بدون اکسیژن رشد نداشتند، و حتی پس از ۱۴ روز تغییر رنگی در محیط کشت که گویای فعالیت باکتری باشد، مشاهده نگردید. واکنش اکسیداز به دلیل تغییر رنگ ملایم معرف در زمان ۶۰ ثانیه، مثبت ضعیف ارزیابی

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1381.6.1.12.9]

جدول ۱. ویژگی‌های فنوتیپی جدایه‌های باکتریایی مورد آزمایش

ویژگی	باکتری‌های آزمون	
	XY	XB
رنگ گرم	–	–
ایجاد فوق حساسیت روی شمعدانی	+	+
ایجاد فوق حساسیت روی توتون	–	–
تولید ملانین	–	+
له کردن سیب‌زمینی	–	–
ایجاد رنگ فلورسانس	–	–
حداکثر دمای رشد	۳۸°C	۳۸°C
درصد تحمل نمک	۲/۵	۲/۵
لوان	+	+
کاتالاز	+	+
اکسیداز	+ (ضعیف)	+ (ضعیف)
هیدرولیز نشاسته	+	+
هیدرولیز ژلاتین	+	+
هیدرولیز توین ۸۰	+	+
هیدرولیز اسکولین	+	+
هیدرولیز کازئین	+	+
آرژنین دی‌هیدرولاز	–	–
احیای نیترات	–	–
تولید اندول	–	–
اوره‌آز	–	–
تولید H_2S از سیستئین	+	+
تولید استوئین	–	–
واکنش متیل‌رد	–	–
تولید زانتومونادین	+	+
تولید ملانین	–	+
تولید آمونیوم	+	+
لستیناز	–	–
کتولاکتوز	–	–
مواد احیا کننده از ساکاروز	+	+

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1381.6.1.12.9]

ادامهٔ جدول ۱.

ویژگی	باکتری‌های آزمون	
	XY	XB
تولید گاز از گلوکز	−	−
تولید اسید از:		
گلوکز	+	+
گالاکتوز	+	+
فروکتوز	+	+
لاکتوز	+	+
زایلوز	−	−
آرابینوز	+	+
مانوز	+	+
ساکاروز	+	+
مالتوز	+	+
ملیبیوز	+	+
رافینوز	+	+
تری‌هالوز	−	−
رامنوز	−	−
گلیسرول	+	+
مانیتول	+	+
دلسیتول	−	−
سوربیتول	−	−
آدونیتول	−	−
سالیسین	−	−
آلفا متیل دی‌گلیکوزید	−	−

شد. افزودن سلول‌های باکتریایی به آب اکسیژنه سه درصد و تشکیل حباب، نشانه مثبت بودن واکنش کاتالاز بود. جدایه‌های باکتریایی به دست آمده از لوبیا توانستند نشاسته، ژلاتین، کازئین، اسکولین و توبین هشتاد را هیدرولیز نمایند، ولی هیچ یک از جدایه‌ها توانایی احیای نیترات و تولید اندول را نداشتند. نتایج این آزمایش‌ها به همراه دیگر آزمون‌های بیوشیمیایی در جدول ۱ خلاصه شده است.

با توجه به توان بیماری‌زایی جدایه‌های XY و XB روی انواع لوبیا، و نیز با در نظر گرفتن ویژگی‌های مورفولوژیک و نتایج حاصل از آزمون‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی و مقایسه این اطلاعات با ویژگی‌های باکتری‌هایی که در منابع علمی ذکر شده است، عامل بیماری سوختگی برگ و غلاف لوبیا در استان

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1381.6.1.12.9]

مرکزی *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Smith) Vauterin *et al.* 1995 تشخیص داده شد. جدایه‌های بیماری‌زای XB نیز به رغم مشابهت‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی، به دلیل تولید رنگدانه‌های قهوه‌ای (ملانین) *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* var. *fuscans* (Burkn.) Vauterin *et al.* 1995 شناخته شدند. در منابع علمی این بیماری به نام سوختگی باکتریایی معمولی لوبیا (Common Bacterial Blight) ذکر شده است (۱۵).

نتایج بررسی‌ها نشان داد که پراکندگی جدایه‌های XY نسبت به XB بیشتر است، ولی از نظر توان بیماری‌زایی، جدایه‌های XB در زمان کمتری باعث بروز علایم بیماری در میزبان می‌شوند. این نتایج با نتایج به دست آمده توسط پژوهشگران دیگر (٤ و ١٠) هم‌خوانی دارد.

به طور کلی می‌توان گفت اگرچه اختلافی از نظر تولید ملانین و شدت بیماری‌زایی در جدایه‌های *X. axonopodis* pv. *phaseoli* و *X. axonopodis* pv. *phaseoli* var. *fuscans* مشاهده گردید، ولی از نظر ویژگی‌های دیگر فنوتیپی و ایجاد علایم روی میزبان در شرایط طبیعی، این جدایه‌ها مشابهت داشتند.

منابع مورد استفاده

1. Agrios, G. N. 1994. Plant Pathology. 4th Ed., Academic Press INC., San Diego, USA.
2. Allen, D. J., R. A. Buruchara and J. B. Smithson. 1998. Diseases of common bean. PP. 179-265. *In*: D. J. Allen and J. M. Lenne (Eds.), The Pathology of Food and Pasture Legumes. International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, India.
3. Dye, D. W. 1968. A taxonomic study of the genus Erwinia "The amylovora" group. Newzealand J. Agric. Sci. 11: 590-607.
4. Gilbertson, R. L. and D. P. Maxwell. 1992. Common bacterial blight of bean. PP. 18-39. *In*: H. C. Chaube, J. Kumar and U. S. Singh (Eds.), Plant Diseases of International Importance. Prentice Hall, New Jersey.
5. Hall, R. 1994. Compendium of Bean Diseases. APS Press, St. Paul, Minnesota, USA.
6. Hugh, R. and E. Leifson. 1953. The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various gram negative bacteria. J. Bacteriol. 66: 24-26.
7. Kiraly, Z., Z. Klement, F. Solymosy and J. Voros. 1974. Methods in Plant Pathology. Elsevier Scientific Pub.Co., Amsterdam.
8. Klement, Z., G. L. Farkas and L. Lovrekovich. 1964. Hypersensitive reaction induced by phytopathogenic bacteria in the tobacco leaf. Phytopathol. 54: 474-477.
9. Lelliot, R. A. and D. E. Stead. 1987. Methods for the Diagnosis of Bacterial Disease of Plants. Blackwell Scientific Pub., London.
10. Opio, A. F., D. J. Allen and J. M. Teri. 1996. Pathogenic variation in *Xanthomona campestris* pv. *phaseoli*, the causal agent of common bacterial blight in *phaseolus* beans. Plant Pathol. 45: 1126-1133.
11. Schaad, N. W. 1988. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. 2nd ed., APS Press., St. Paul, Minnesota, USA.
12. Schwartz, H. F. and G. E. Galvez. 1980. Bean Production Problems. Centro Internacional de Agriculture Tropical, Cali, Colombia.
13. Sulsow, T. V., M. N. Schorth and M. Saka. 1982. Application of a rapid method for gram differentiation of plant pathogenic and saprophytic bacteria without staining. Phytopathol. 72: 917-918.
14. Teresa Cubo, M., A. M. Buendia-Claveria, J. E. Beringer and J. E. Ruiz-Sainz. 1988. Melanin production by *Rhizobium* strains. Appl. Environ. Microbiol. 54: 1812-1817.

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1381.6.1.12.9]

15. Vauterin, L., B. Hoste, K. Kersters and J. Swings. 1995. Reclassification of *Xanthomonas*. Int. J. Syst. Bacteriol. 45: 472-489.
16. Webster, D. M., J. D. Atkin and J. A. Cross. 1983. Bacterial blights of snap beans and their control. Plant Dis. 67: 835-940.
17. Weler, D. M. and A. W. Saettler. 1980. Colonization and distribution of *Xanthomonas phaseoli* and *X. phaseoli* var. *fuscans* in field-grown navy beans. Phytopathol. 70: 500-506.

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1381.6.1.12.9]