

بیماری لکه نواری باکتریایی غلات چالشی جدید در تولید بذر کشور

فاطمه خلقتی بناء، کبری مسلم خانی و سعید اسروش
اعضای هیئت علمی مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال

مقدمه

بیماری نواری باکتریایی غلات با عوامل *Xanthomonas translucens pvs. translucence & andulosa* از مهم ترین بیماری های بذرزاد جو و به ویژه گندم در مناطق گرم و مرطوب است که علاوه بر گندم و جو می تواند در غلات دیگری مانند یولاف، چاودار نیز بیماری زا باشد. همچنین می تواند روی علف های هرز خانواده گندمیان مانند فالاریس، فستوکا و بروموس نیز بقا یابد. مطالعات نشان داده که توانایی زندگی اپیفیتی روی میزبان به عنوان پیش زمینه بیماری زایی ضروری است. علت نام گذاری این گونه، تبدیل اووز باکتری به صفحات نازک براق در شرایط خشکی و در نتیجه شفافیت لکه های قهوه ای نواری شکل بیماری در برابر نور است.

مناطق انتشار بیماری در دنیا

بیمارگر باکتری نواری غلات دارای انتشار جهانی است. بر اساس گزارش سازمان حفظ نباتات اروپا و مدیترانه این بیماری از چندین کشور اروپایی و ناحیه مدیترانه مانند فرانسه، اسپانیا، رومانی، سوئد، مراکش، روسیه، سوریه و چندین کشور آسیایی مانند ایران، چین، پاکستان، آذربایجان و نیز برخی کشورهای آفریقایی، ایلات متحده و استرالیا گزارش شده است.

مناطق انتشار بیماری در کشور

در ایران برای اولین بار به طور پراکنده و تنها روی برگ های گندم در مزارع استان کرمان مشاهده شد. هم اکنون بر اساس گزارشات موجود در مزارع گندم و جو بیشتر مناطق کشور مانند همدان، لرستان، کرمان، آذربایجان شرقی، یزد، زنجان، خراسان و

تهران با درجات متفاوتی از شدت شیوع دارد.

علائم بیماری روی برگ و ساقه

ظهور علائم در سطح برگ، ابتدا به صورت لکه های کوچک آسوخته موازی با رگبرگ ها، سپس گسترش و تشکیل لکه های نواری که در جو و تریتیکاله زرد رنگ و در گندم به رنگ قهوه ای تیره با مرکز نکروزه است. ترشحات باکتری روی این لکه ها در شرایط خشک به صورت گرانول های زرد رنگ درآمده که سبب شفاف شدن این لکه ها در برابر نور می شود. بروز لکه های نواری شکل مشخص در جو، تریتیکاله و چاودار بیشتر از گندم است. علائم بیماری ممکن است با لکه برگی های فیزیولوژیکی اشتباه گرفته شود. در شرایط خشک یا میزبان های متحمل این نوارها کوچک باقی می ماند. ممکن است بیماری به سمت غلاف برگ پیشروی و در نهایت آلودگی به ساقه ها نیز سرایت کند و لکه های خطی سیاه رنگ روی ساقه بوجود آید. در این صورت به سبب وجود ترشحات چسبنده باکتری در منطقه غلاف، ممکن است رشد طبیعی ساقه ها نیز دچار مشکل شده و علائم پیچیدگی و بدشکلی در ساقه ها ظاهر شود. در شرایط مرطوب، قطرات شیری رنگی از ترشحات باکتری بر سطح برگ ها نیز ظاهر می شود (شکل ۱).

علائم بیماری روی سنبله

در صورت گسترش بیماری و آلودگی سنبله یا گردن سنبله، علائم کاه سیاه یا سوختگی سیاه پوشینه ها ظاهر می شود. در این شرایط به دلیل ظهور خطوط طولی آسوخته و در مراحل پیشرفته تر ارغوانی تا سیاه روی پوشینه ها، بیماری به سهولت قابل تشخیص خواهد بود. ممکن است محور سنبله، پوشه و ریشک ها نیز

آلوده‌شوند. علائم در گندم بسته به شرایط محیطی، رقم و شدت بیماری متفاوت است. در صورت آلودگی سنبله‌ها و بروز علائم کاه سیاه، بذور چروکیده و سبک خواهند شد.

تشخیص بیماری در مزرعه

برای تشخیص بیماری از مرحله پنجه زنی بازرسی و جستجو در برگ‌ها آغاز می‌شود و از مرحله گلدهی تا مرحله خمیری، بازرسی و ارزیابی برگ‌ها به ویژه برگ‌های بالایی، سنبله‌ها و ساقه‌ها جهت مشاهده علائم بیماری و ترشحات باکتری ادامه می‌یابد. جهت افزایش دقت می‌توان از ذره بین دستی برای مشاهده پولک‌های حاصل از ترشحات خشک شده باکتری استفاده کرد.

ردیابی باکتری در آزمایشگاه

در قدم نخست از لکه‌های برگ‌گی مشکوک برش عرضی تهیه شده و از قطعات برش داده شده با افزودن یک قطره آب، اسلاید شیشه‌ای تهیه می‌شود. سپس اسلایدهای تهیه شده با بزرگنمایی ۴۰ میکروسکوپ مشاهده و بررسی می‌شود. در صورت آلودگی جریانی از باکتری از حاشیه برش خورده برگ به بیرون خارج می‌شود. باید توجه داشت که خروج جریان باکتری از لکه برگ‌گی‌های کهنه و نیز لکه‌های روی پوشینه‌ها و دم خوشه‌ها بسیار کم و ممکن است مشاهده نشود. جهت جداسازی باکتری از برگ یا بذور آلوده پس از ضد عفونی سطحی، سوسپانسیون باکتری تهیه شده و رقیق سازی می‌شود. سپس سوسپانسیون رقیق شده باکتری روی محیط مناسب کشت و باکتری جداسازی می‌شود. جهت اطمینان از جداسازی، مراحل خالص سازی باکتری و انجام آزمون‌های بیوشیمیایی مانند آزمون‌های گرم و کاتالاز الزامی است. در مرحله بعد باکتری جدا شده برای بیماری‌زایی روی توتون و تولید نواحی آبسوخته یا واکنش فوق حساسیت مورد آزمون قرار می‌گیرد (شکل ۳). درستی ردیابی سرانجام با تکثیر قطعه ۱۶S ژنوم باکتری با آغازگرهای جنس زانتوموناس (FD۱/rP۲) و تعیین توالی محصول تکثیر و مقایسه توالی به دست آمده با توالی‌های ثبت شده برای ژنوم باکتری بیماری‌زا در بانک اطلاعاتی جهانی تایید می‌شود.

زیست‌شناسی و انتشار بیماری

یک تک گیاه آلوده توانایی آلوده‌سازی گیاهان موجود در فضای به وسعت ۳۰ متر مربع را در فصل رشد دارد هر چند در عمل این نرخ معمولاً بسیار کمتر است. دوره زندگی باکتری بسیار کوتاه و هر سیکل آلودگی کمتر از ۱۰ روز طول می‌کشد. باکتری دامنه دمایی

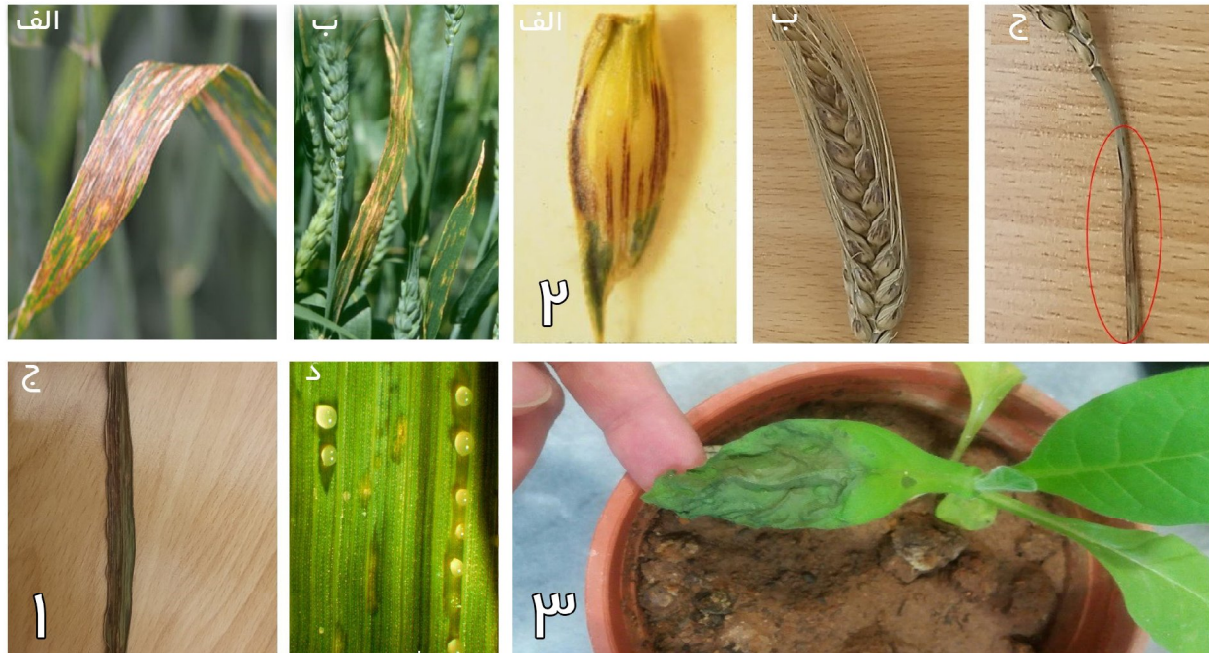
۱۵-۳۰ درجه سلسیوس را تحمل می‌کند اما مناسب‌ترین دما برای نفوذ اولیه باکتری و شروع بیماری ۲۶ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی بالا است. تکثیر و پیشرفت باکتری در بافت‌های میزبان تنها متأثر از دما بوده و پس از شروع آلودگی کاهش رطوبت نسبی به کمتر از ۳۰ درصد، تأثیری در محدود کردن توسعه بیماری ندارد. باکتری در بذر بیشتر از ۶۳ ماه زنده می‌ماند هر چند توانایی رشد مجدد باکتری پس از چند ماه انبارداری به شدت کاهش می‌یابد. بقای باکتری در مزرعه تنها به بروز بیماری در میزبان وابسته نبوده و جمعیت اپیفیتی باکتری روی گونه‌های غیر میزبان نقش مهمی در بقا باکتری به عهده دارند. ماندگاری باکتری آزاد در خاک کوتاه است و در صورت وجود تابستان‌های طولانی و گرم جمعیت باکتری در بقایای گیاهی آلوده به شدت کاهش می‌یابد. انتقال بیماری به مسافت‌های دور دست با بذر صورت می‌گیرد. این باکتری می‌تواند همراه باد، باران، بقایای گیاهی، علف‌های هرز میزبان، حشرات مانند تریپس و شته، بذر و خاک آلوده از نقطه‌ای به نقطه دیگر یا از سالی به سال دیگر منتقل شود. نقش آبیاری بارانی و پاشش آب در جابجایی باکتری در مسافت‌های کم و لکه‌ای بسیار مهم است. در مجموع می‌توان بقایای گیاهی آلوده، علف‌های هرز میزبان و خاک را مهم‌ترین منابع اصلی زادمیاه اولیه دانست. با این که نرخ انتقال با بذر پایین است ولی بذر منبع مهمی برای گسترش زادمیاه اولیه به مناطق پاک و عاری از آلودگی است.

خسارت بیماری

تخمین خسارت کمی بیماری به محصول بسیار دشوار است و اطلاعات کمی در این زمینه وجود دارد. گرچه بیشتر محققین خسارت بیماری را ۱۰ درصد یا کمتر گزارش کرده‌اند، اما برخی محققین در مزارع آلوده‌ای که به شیوه بارانی آبیاری می‌شوند، خسارت بیماری را ۴۰-۳۰ درصد تخمین می‌زنند. خسارت بیماری به میزان زیادی به درصد آلودگی برگ‌های پرچم بستگی دارد. در سال‌های اخیر میزان خسارت این بیماری در کشور ۱۰ تا ۴۰ درصد برآورد شده است.

طرح یک برنامه کلی برای ارزیابی خطر بیماری باکتریایی نواری غلات و مدیریت آن الف) ارزیابی خطر ورود آلودگی، استقرار و انتشار بیماری

۱- شواهد نشان می‌دهد که درصد بذر زادی در پاتووار ترانسولوسنس بسیار بالاست و این پاتووار توانایی بیشتری در انتقال به مناطق دور دست به همراه بذر را دارد. بنابراین ارزیابی و شناسایی



شکل ۱- لکه‌های نواری شفاف به صورت نواحی کلروز شده (در مرحله اولیه بیماری) کلروز یا نکروز ناشی از بیماری نواری باکتریایی برگ گندم (D, B, A) لکه‌های نواری آیسوخته به همراه ترشحات باکتری *Xanthomonas translucens* (C). شکل ۲- آلودگی سنبله و گردن سنبله به بیماری نواری باکتریایی برگ گندم. شکل ۳- آزمون بیماری‌زایی سوسپانسیون باکتری روی توتون و بروز واکنش فوق حساسیت پس از ۴۸ ساعت

ج) اپیدمیولوژی و مدیریت بیماری

تعداد گیاهان آلوده در هر مزرعه به میزان زاد مایه اولیه موجود در مزرعه، حساسیت رقم و میزان مساعدت شرایط محیطی برای انتشار بیماری از کانون‌های اولیه شروع بیماری در مزرعه بستگی دارد. وضعیت بذر از نظر آلودگی، نزدیکی مزارع ارقام حساس به مزارع آلوده در سال زراعی جاری و پیشین، آلودگی ماشین آلات و ادوات باید مورد توجه قرار گیرد.

۱- ارائه روش‌ها و دستورالعمل‌های واحد جهت نمونه برداری و تعیین شدت آلودگی: دست کم تعداد ۱۰۰ بوته در هر نمونه برداری باید ارزیابی شود.

۲- طراحی و اجرای آزمایش‌های اپیدمیولوژیکی: با استفاده از اطلاعات به دست آمده از تحقیقات اپیدمیولوژیکی، مدل‌های انتشار بیماری در مزرعه و به فواصل دور دست تعیین می‌شود.

۳- معرفی مناطق عاری از آلودگی: استقرار و نگهداری مناطق عاری از بیماری کاری پرهزینه و زمان‌بر است، به ویژه اگر بیمارگر قبلاً در کشور وارد شده و استقرار یافته باشد. با این وجود محدود سازی بیمارگر در مناطق آلوده و ممنوعیت جابجایی بذر بین مناطق و استان‌های مختلف می‌تواند در کنترل بیماری و انتشار آن مؤثر باشد. یافتن مناطق عاری از آلودگی نیازمند بررسی همه جنبه‌های اپیدمیولوژیکی بیماری مانند روش‌های انتشار و توانایی ماندگاری

مناطق مختلف کشور از نظر حضور بیماری و شناسایی مناطق پاک و پس از آن ارزیابی توانایی بیمارگر در استقرار بیماری در مناطق مختلف کشور ضروری است. این ارزیابی به دنبال یافتن پاسخ پرسشهایی از این دست است: کدام یک از گونه‌های باکتری بیمارگر در میزبان‌های گندم و جو عامل بیماری است و آیا برای هر یک از پاتوژها میزبان اختصاصی وجود دارد؟ در چه مناطقی موفقیت باکتری در استقرار بیشتر است؟

۲- ارزیابی خطر انتشار بیماری در مناطق مختلف: بررسی وضعیت مزارع از نظر راه‌های انتشار بیماری در فواصل نزدیک (آبیاری و مدیریت زراعی مزرعه) و انتشار به مناطق دور دست (منشاء بذر)

۳- ارزیابی اثرات زیست محیطی بیماری باکتریایی نواری غلات

۴- تخمین خطر کلی بیماری باکتریایی نواری غلات

ب) دستیابی به روش‌های تشخیص بیمارگر و توسعه آنها

۱- ارائه آموزش‌های لازم به بهره برداران و بازرسان برای شناخت علائم در مزرعه و اطمینان از ردیابی و شناسایی درست بیمارگر در مزرعه

۲- ارائه دستورالعمل واحد در ردیابی و شناسایی بیمارگر جهت تایید شناسایی به کمک آزمون‌های تایید شده

باکتری، دسترسی بیمارگر به میزبان‌های اصلی و ثانویه، توجه به قوانین قرنطینه موجود در جابجایی بذر، انجام نمونه برداری استاندارد و درست از نظر آماری (دست کم ۱۰۰ بوته در هر نمونه برداری) از مزرعه، تأیید نتایج تشخیص علائم در مزرعه به کمک روش‌های آزمایشگاهی، نمونه برداری استاندارد از بذر (دست کم ۴۰۰ عدد بذر)، است.

۴- مدیریت و کنترل بیماری در مناطق آلوده با به کارگیری مجموعه روش‌های موجود به ویژه روش‌های به‌زراعی جهت بهداشت مزرعه و کاهش منابع آلودگی

اصول کلی مدیریت بیماری

عملیات زراعی مناسب می‌تواند مقادیر اندک زادمایه اولیه بیمارگر -مقدار باکتری در شروع فصل که در خاک یا بذر بقا یافته است- را در علف‌های هرز میزبان و کاه و کلش آلوده کنترل کند اما هیچ تیماری قادر به از بین بردن کامل آلودگی بذری بدون کاهش قوه نامیه بذر نیست. اثر تیمارهایی مانند آب گرم، سموم مسی و اسیدی، گرمای خشک، سمومی مانند گوزاتین پلاس (Guzatine Plus) در کاهش جمعیت باکتری در بذر به ویژه در مورد توده‌های بذری کوچک به اثبات رسیده است. اما بر اساس گزارش‌های موجود ضد عفونی بذر با سموم باکتری کش یا سمپاشی مزرعه به ویژه در شرایط اپیدمی و پس از پیشرفت بیماری تأثیر چندانی در کنترل بیماری ندارد. آلوده شدن خاک و توانایی ماندگاری باکتری روی علف‌های هرز به ویژه در مزارع بسیار آلوده و شرایط دمایی و رطوبتی مناسب، مدیریت این بیماری را چالش برانگیز و دشوار می‌نماید. به کارگیری مجموعه‌ای از روش‌های زراعی و بهداشت مزرعه شامل تناوب با محصولات دیگری به جز غلات، استفاده از کودهای میکرو در شروع فصل رشد جهت افزایش مقاومت گیاه به بیماری، حذف بقایای آلوده از مزرعه یا شخم و دفن عمیق آن‌ها، مبارزه با علف‌های هرز، کاهش تراکم کشت و عدم استفاده از روش آبیاری بارانی، جلوگیری از انتقال بذر، خاک و ادوات کشاورزی آلوده به مناطق پاک، استفاده از بذر سالم و تولید بذر در مناطق عاری از بیماری، اجتناب از کشت ارقام حساسی مانند پیشگام و میهن، و کشت ارقام مقاومی مانند الوند در مناطق آلوده از مهم‌ترین روش‌های توصیه شده در مدیریت بیماری نواری باکتریایی به شمار می‌آید.

روند گسترش بیماری در کشور و چشم انداز آینده

بیماری نواری باکتریایی غلات از سال‌ها قبل به صورت اندمیک در مزارع کشور وجود داشته است اما خسارت آن هرگز به آستانه زیان اقتصادی نزدیک نشده بود، این در حالی است که در دو سال

گذشته اپیدمی گسترده بیماری، مقابله با این بیماری و تأمین بذر سالم را به چالشی مهم در مدیریت زراعت کشور تبدیل کرد. وجود بارندگی‌های بهاره در اکثر نقاط کشور و فراهم شدن شرایط مناسب دمایی و رطوبتی، گسترش آبیاری بارانی و کشت وسیع ارقام حساسی مانند میهن و پیشتاز، نبود تناوب زراعی مناسب و به احتمال زیاد آلودگی بذر را می‌توان از دلایل اصلی طغیان بیماری دانست. در صورت ادامه روند حاضر در مدیریت مزارع و عدم اصلاح مدیریت بیماری، به دلیل آلودگی گسترده مناطق مختلف کشور، تأمین بذر سالم و عاری از آلودگی برای کشت در مناطق پاک و عاری از بیماری به چالشی بزرگ تبدیل خواهد شد. این مهم نیازمند آموزش و آگاه‌سازی گسترده بهره‌برداران در زمینه پایش و شناسایی به موقع بیماری، مدیریت صحیح زراعی مزارع اعم از بذری و غیر بذری، تهیه بذر از مناطق سالم است. مدیریت واحد و قدرتمند در تأمین بذر سالم می‌تواند از جابجایی این بیماری به همراه بذر آلوده پیشگیری کند. استفاده از روش‌های دیگری مانند مبارزه بیولوژیکی با عوامل بیوکنترول از امیدهای تازه در مدیریت بیماری است که هم اکنون در کشور در دست مطالعه قرار دارد.

منابع

-بیک، ف.، علیزاده، ع. و خداکریمیان، غ. ۱۳۸۳. واکنش ارقام مختلف گندم و جو نسبت به عوامل بیماری باکتریایی نواری غلات. مجله علوم زراعی ایران. ۱-۱۲ صفحه.

- یدایی، ا. و اکبر پور، ب. ۱۳۹۶. بیماری نواری باکتریایی نواری گندم و جو دستور العمل اجرایی شماره ۹۶۰۴۱۲. دفتر پیش آگهی و کنترل آفات و بیماری‌ها.

-Alizadeh, A. and Rahimian, H. 1989. Bacterial leaf streak of Gramineae in Iran. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 19, 113117-

-Anonymous, 2017. Data Sheets on Quarantine Pests : *Xanthomonas translucens* pv. *Translucens*. EPPO quarantine pest.pp.6.

-Duveiller, E., 1994. A pictorial series of disease assessment keys for bacterial leaf streak of cereals. *Plant disease*, 78(2), pp.137141-

-Lindbeck, K. 2011. Bacterial leaf streak *Xanthomonas translucens* pv. *Translucens*, *Xanthomonas translucens* pv. *Undulosa*. In: INDUSTRY BIOSECURITY PLAN FOR THE GRAINS INDUSTRY Threat Specific Contingency Plan. Plant Health Australia. pp.27.

-Maes, M.; Garbeva, P. 1995. Development of a PCR-based detection method for *Xanthomonas campestris* pv. *translucens*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 25: 203209-.