

## گزارش کوتاه

نخستین گزارش همراهی *Stenotrophomonas sp.* با بیماری لکه‌برگی و شانکر

هسته‌داران

**The first report of *Stenotrophomonas sp.* associated with canker and leaf spot disease of stone fruits in Iran**

حکیمه حبیبی، پژمان خدایگان<sup>\*۱</sup>

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۸/۱۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۱/۱۲)

در پاییز سال ۱۳۹۱ از درختان هلو، زردآلو و آلبالو در استان البرز، دارای علائم لکه‌برگی، شانکر و سرخشکیدگی، تعدادی باکتری جداسازی گردید. این علائم مشابه با علائمی بودند که توسط باکتری‌های *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (Pss) و *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* ایجاد می‌گردند. این باکتری‌های بیمارگر قبلاً در مناطقی از شمال ایران گزارش شده‌اند (Aldaghi, et al., 2010; Mahmoudiet al., 2012). باکتری‌های جداسازی شده از نمونه‌های بیمار، کلنی‌های گرد، برجسته، لعابی و اندکی رنگ زرد روی محیط آگار غذایی حاوی نیم درصد سوکروز (NAS) تولید نمودند. در آزمون بیماری‌زایی، ده برگ جداسازی شده از نهال جوان زردآلو، هلو و گیلاس بصورت مجزا، شستشو و ضدعفونی سطحی شده و بر روی بستره‌ای حاوی یک درصد آگار قرار گرفت. هر برگ با سوسپانسیون از باکتری با رقت  $10^8$  سلول در میلی‌لیتر مه‌پاشی گردید. در آزمون دیگر برای مشاهده و مقایسه علائمی مشخص، از سه جدایه مرجع *X. a. pv. pruni* ICMP17186، *Erwinia amylovora* ICMP1540، Pss ATCC19310 نیز به عنوان شاهد مثبت استفاده گردید. جدایه‌های بیمارگر با استفاده از تعداد محدودی آزمون بیوشیمیایی مورد شناسایی مقدماتی قرار گرفتند (Palleroni, & Bradbury., 2001.; Schaadet al., 1993). توان جدایه‌ها در ایجاد هسته‌های یخ با استفاده از روش بررسی قطره‌ای مورد سنجش قرار گرفت. طبق ویژگی‌های فنوتیپی، هیچکدام از جدایه‌ها به گونه‌های Pss یا *X. a. pv. pruni* تعلق نداشتند. براساس ویژگی‌های تعیین شده، همه جدایه‌ها گرم منفی و هوازی اجباری بوده و توانایی القا واکنش فوق حساسیت در توتون را داشتند. هیچکدام توانایی هیدرولیز کازئین، نشاسته، تایروزین، تولید اندول و لوآن را نداشتند. واکنش‌های اوره‌آز، تولید مواد

\* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Pkhodaygan@vru.ac.ir

۱- گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر رفسنجان



شکل ۱. علائم بیماری روی برگ هلو: نمونه‌های جمع‌آوری شده در باغ (سمت راست). علائم ایجاد شده هشت روز پس از مایه‌زنی روی برگ هلو در شرایط آزمایشگاهی (سمت چپ).

**Fig. 1. Symptoms on the leaves of peach: Collected from the field, (right). Observed symptoms in pathogenicity test after 8 days on peach leaf in vitro (left).**

احیا کننده از ساکاروز، اکسیداز، لستیناز، آرژینین دهیدرولاز، احیا نیترات و تحمل نمک طعام ۵ درصد نیز در آنها منفی ارزیابی گردید. هیچکدام از جدایه‌ها توانایی تولید اسید از ترهالوز، لاکتوز و مالتوز را نداشتند. جدایه‌ها در آزمون‌های تولید گاز سولفید هیدروژن از سیستئین و پپتون، تولید پروتئاز و رشد در دمای ۳۷ درجه سلسیوس مثبت ارزیابی شدند. القا واکنش فوق حساسیت سریع در برگ‌های توتون و شمعدانی به عنوان توان احتمالی این جدایه‌ها در بیمارگری تلقی گردید. علائم پدید آمده پس از آزمون بیماری‌زایی کاملاً، مشابه با علائم مشاهده شده در طبیعت بود و از بافت مایه‌زنی شده جمعیت بالایی از باکتری جداسازی گردید. باکتری‌های جداسازی شده مجدداً به روش‌های ذکر شده شناسایی گردیدند. بخشی از ناحیه 16s rDNA با استفاده از آغازگرهای عمومی 63f و 1384r در نمایندگانی از جدایه‌ها، تکثیر و توالی‌یابی گردید (Marchesiet al., 1998). هزار و صد نوکلوتید از ناحیه rRNA توالی‌یابی شده با سایر توالی‌های موجود در بانک ژن هم‌ریف و مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج این بررسی نشان داد که جدایه‌های منتخب شماره ۱۰۶ (رس‌شمار KF752591) و ۸۱ (رس‌شمار KF7440537) دارای ۹۹ درصد تشابه در بخش توالی‌یابی شده از ناحیه 16s rDNA با توالی جنس *Stenotrophomonas* هستند. همه جدایه‌ها توانایی تولید هسته یخ را داشتند. بیشتر باکتری‌های مولد هسته یخ اپی‌فیت بوده و روی سطح اغلب گیاهان زندگی می‌کنند. باکتری‌های مولد هسته یخ می‌توانند سبب افزایش سرعت ایجاد یخ در دمای کمتر از ۲- درجه سلسیوس شده و موجب سرمازدگی و ایجاد خسارت در گیاهان حساس گردند. دو گونه از این جنس شامل *S. maltipholia* و *S. Rizophila*. به عنوان عوامل همراه با بیماری بلاست مرکبات از استان گلستان در شمال ایران گزارش شده و از نظر توان ایجاد هسته یخ مثبت ارزیابی گردیده بودند (Alimiet al., 2012) در پژوهش مذکور توان ایجاد بیماری و یا امکان دخالت این عوامل در افزایش احتمالی شدت بیماری مورد سنجش قرار نگرفته بود. براساس اطلاعات ما این نخستین گزارش از وجود این جنس و دخالت‌آندر ایجاد علائم لکه‌برگی و شانکر باکتریایی در هسته‌داران استان البرز می‌باشد.

## منابع

- Aldaghi M. Rahimian H and Mahmoudi H. 2010. Comparison of phenotypic, serological and molecular characteristics of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strains, the causal agent of bacterial canker of stone fruits and blight of cereals. *Iranian journal of Plant Pathology*, 45(4): 91-93 .
- Alimi M. Rahimian H. Hasanzadeh M. Heydari N. Taghinasab M. and Balestra G. M. 2012. First Isolation and Identification of three species *Stenotrophomonas maltophilia* . *S. rhizophila*, and *Alcaligenes faecalis* from citrus trees in relation with bacterial blast of citrus. *Proc. 20th Iran Plant Protec. Cong. August 2012*. P561.
- Mahmoudi H. Rahnema K. Rahimian H. Nasrolahnejad S. and Taghinasab M. 2012. Investigation on casual and associated agents with bacterial canker stone fruit trees in Golestan Province. *Journal of Plant Production*, 18 (4): 73-80
- Marchesi J. R. Sato T. Weightman. A. J. Martin T. A. Fry J. C. Hiom S. J. Dymock D. and Wade W. G. 1998. Design and evaluation of useful bacterium-specific PCR primers that amplify genes coding for bacterial 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*, 64 (2): 795-799.
- Palleroni N. G. and Bradbury J. F. 1993. *Stenotrophomonas*, a new bacterial genus for *Xanthomonas maltophilia* (Hugh 1980) Swings et al. 1983. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 43(3): 606-609.
- Schaad W. N. Jones J. B. and Chun W. 2001. *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. 3rd ed. APS press USA.373p.