جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی
جلد چهاردهم، شماره دوم، خرداد ـ تیر ۱۳۸۶
www.sid.ir
www.magiran.com/jasnr

شناسایی میزبان‌های اپی‌فیتی *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* عامل بیماری نوار قرمز نیشکر در مزارع مازندران

*محسن خانی[1]، حشمت‌اله رحیمیان[2] و غلام خداکرمیان[3]
[1]مربی بخش تکنولوژی تولیدات گیاهی دانشگاه شیراز، [2]استاد گروه گیاهپزشکی دانشگاه مازندران،
[3]استادیار گروه گیاهپزشکی دانشگاه بوعلی سینا، همدان

تاریخ دریافت: ۸۲/۱۰/۱٤ ؛ تاریخ پذیرش: ۸۵/۸/۱۰

چکیده

به منظور بررسی بقاء جدایه‌ای *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* عامل بیماری نوار قرمز نیشکر در غیاب نیشکر، در مزرعه و یا زمان‌هایی که شرایط برای ایجاد بیماری مناسب نمی‌باشد، جمعیت باکتری روی علف‌های هرز مزارع نیشکر و حاشیه آنها در ماه‌های آبان و دی ۱۳۸۰ و خرداد ۱۳۸۱بررسی گردید. جمعیت جدایه‌ها روی گیاهان چسبک (*Setaria viridis*)، مرغ (*Cynodon dactylon*)، خونی واش (*Phalaris minor*)، قیاق (*Sorghum halopense*)، ذرت (*Zea mays*) و تاج خروس (*Amaranthus retroflexus*) در دی ماه بالاتر و در خرداد ماه پایین‌تر از دو فصل دیگر نمونه‌برداری بود. بنابراین به نظر می‌رسد گیاهان چسبک و مرغ میزبان‌های اپی‌فیتی مناسبی برای این باکتری باشند.

واژه‌های کلیدی: میزبان اپی‌فیتی، بیماری نوار قرمز نیشکر، *Pseudomonas syringae* pv.*syringae*، مازندران

مقدمه

در بین محصولات کشاورزی، نیشکر گیاهی است که در تأمین انرژی مورد نیاز انسان نقش ویژه‌ای دارد. اولین بار در ژاپن یانو و همکاران (۱۹۸٦) میلادی یک بیماری جدید باکتریایی را که به وسیله *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (*Pss*) ایجاد می‌شد، به عنوان بیماری نوارقرمز[1] معرفی کردند(یانو و همکاران، ۱۹۸٦). رحیمیان(۱۹۹۵) این بیماری را روی نیشکرهای مزارع استان مازندران مشاهده کرد و مشخص نمود که علایم مشاهده شده در مازندران شبیه علایم بیماری نوار قرمز مزارع ژاپن است (رحیمیان، ۱۹۹۵).

علایم این بیماری شامل لکه‌های متمایل به قرمز، خطی تا بیضوی به‌صورت بین رگبرگی با طول‌های متفاوت است. وسط لکه‌ها متناوباً سفید شده یا به رنگ سفید متمایل به کرم رنگ در می‌آید. عرض لکه‌ها معمولاً یک تا دو میلی‌متر و طول آنها از ۲ تا ۲۰۰ میلی‌متر متغیر است. برگ‌های جوان و قدیمی نیشکر هر دو به بیماری حساس هستند. بیماری در مازندران از

*- مسئول مکاتبه: Khani@shirazu.ac.ir

1- Red-streak

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

اواخر تابستان تا اوایل زمستان قابل مشاهده است و در زمین‌های پست و مرطوب مازندران بعد از سال ۱۳٦۸ هر ساله دیده شده است. به نظر می‌رسد که مزارع با تراکم بیشتر به همراه شرایط سرد و مرطوب در نیمه دوم فصل رشد گیاهان نیشکر، شرایط را برای آلودگی و توسعه بیماری فراهم می‌کند (رحیمیان، ۱۹۹۵؛ رحیمیان، ۲۰۰۰).

باکتری‌های پاتوژن می‌توانند روی گیاهان مختلف جمعیت خود را به‌صورت اپی‌فیتی[1] افزایش دهند و برای مدت طولانی و طی شرایط سخت محیطی دوام و بقا یافته و هنگامی که شرایط محیطی مناسب فراهم شود، روی این گیاهان بیماری ایجاد نمایند. در این میان علف‌های هرز مزارع می‌توانند به‌عنوان میزبان اپی‌فیتی و نیز ثانوی این باکتری‌ها عمل کرده و موجب افزایش آلودگی در مزارع شوند (ابرین و لیندو، ۱۹۸۹).

در سال‌های اخیر بقا *Pseudomonas syringae* روی بسیاری از گیاهان میزبان و غیرمیزبان همچون هلو (دولر و ویوور، ۱۹۷۵)، گیلاس (کروس، ۱۹٦۳)، زردآلو، بادام، زیتون، رز و سرو (انگلیش و داویس، ۱۹٦۰) و گوجه فرنگی (اشنایدر و گروگان، ۱۹۷۷) مشخص شده است.

فریدا و اتاو (۱۹۷۸) مشخص کردند که *Pseudomonas syringae* عامل بیماری نکروز باکتریایی برگ گندم به‌صورت اپی‌فیت می‌تواند روی برگ‌های گندم بقا یابد و سپس در شرایط مساعد پراکنده شده و سبب ایجاد بیماری روی بوته‌ها گردد، بنابراین نقش مهمی در توسعه بیماری دارد (فریدا و اتاو، ۱۹۷۸).

در تحقیقی که به وسیله ارکولانی و همکاران (۱۹۷٤) برروی میزان بقا اپی‌فیتی باکتری *P.s.* pv. *syringae* روی گیاهان هرز مزارع لوبیا صورت گرفت، مشخص شد که این باکتری روی گیاه ماشک (*Vicia villosa*) بقا می‌یابد. بیشترین جمعیت اپی‌فیتی باکتری روی ماشک در ماه‌های اردیبهشت و خرداد (جمعیت بیش از 10^7 سلول در گرم بافت تازه) و کمترین (جمعیت 10^5-10^4 سلول در گرم بافت تازه) در اوایل تیر تا نیمه مرداد ماه شمارش شد. اوج منحنی رشد باکتری در پاییز با جمعیت تقریبی 10^7 سلول در هر گرم بافت تازه بود. همبستگی مثبتی بین جمعیت اپی‌فیتی بالای این باکتری روی ماشک به‌عنوان علف هرز مزارع لوبیا و شیوع بیماری لکه قهوه‌ای باکتریایی روی لوبیا در همان سال زراعی وجود داشت (ارکولانی و همکاران، ۱۹۷٤).

یک بررسی در زمینه جمعیت اپی فیتی باکتری *P. s.* pv. *syringae* روی یک نوع لوبیا[2] و گیاهان غیر میزبان و مشاهده بیماری لکه قهوه‌ای در رابطه با الگوی کاشت انجام شد که مشخص گردید باکتری روی گیاه ماشک فقط در مزارع لوبیا به‌صورت اپی‌فیتی با جمعیتی زیاد وجود دارد. گیاهان دیگری مانند بلوط، اقاقیا و چاودار که در اطراف مزارع لوبیا وجود داشتند، جمعیت اپی‌فیتی باکتری را فقط تا اندازه‌ای ولی نه در حد گیاه ماشک، در سطح خود داشتند (لیندمن و همکاران، ۱۹۸٤).

رقابت علف‌های هرز در اوایل دوره رشد نیشکر اهمیت دارد ولی با افزایش ارتفاع نیشکر از قدرت رقابت علف‌های هرز کاسته می‌گردد، بنابراین کشت در زمین عاری از علف هرز و کنترل علف‌های هرز نیشکر در اوایل دوره رشد به علت رقابت آنها با نیشکر ضرورت دارد. از طرفی، بعضی از علف‌های هرز مزارع نیشکر می‌توانند به‌عنوان میزبان اپی‌فیتی یا ثانوی باکتری *P.s.*pv. *syingae* عامل بیماری نوار قرمز نیشکر و بعضی باکتری‌های پاتوژن دیگر یا بیماری‌های قارچی و یا ویروسی نیشکر عمل کرده و سبب دوام و بقا پاتوژن در مزرعه شوند، به همین جهت هر ساله بیماری می‌تواند در مزارع نیشکر مشاهده شود. این پاتوژن‌ها از روی علف‌های هرز مزارع یا به وسیله تراوش قطرات باران همراه باد، یا بوسیله حشرات و یا حتی وسایل مکانیکی، به گیاهان نیشکر منتقل شده و آنها را آلوده می‌کنند، از این‌رو کنترل علف‌های هرز مزارع نیشکر اهمیت دو

1- Epiphytic

2- Snap bean

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

چندانی می‌یابد (کرافت، ۲۰۰۰؛ گیگلیوتی و ماتسوکا، ۲۰۰۰).

در مزارع نیشکر مازندران بیشتر علف‌های هرز قیاق، مرغ، ارزن، تاج خروس، تاجریزی، خونی‌واش، چسبک و سلمک دیده می‌شوند.

هدف این تحقیق شناسایی گونه‌هایی از علف‌های هرز می‌باشد که در غیاب گیاهان نیشکر می‌توانند جمعیت بالای از باکتری عامل بیماری نوار قرمز را به صورت رورست (اپی‌فیت) در سطح خود نگهداری نمایند و همین سبب دوام و بقا پاتوژن در فصل نامساعد ایجاد بیماری و شیوع بیماری در شرایط مناسب محیطی در دوره دوم فصل رشد نیشکر در مزارع گردد، به این ترتیب حذف این گونه‌های علف هرز منبع اینوکولوم اولیه جهت کنترل بیماری اهمیت می‌یابد.

مواد و روش‌ها

تهیه محیط کشت نیمه انتخابی برای جدایه‌های *Pss*: جهت تهیه محیط کشت نیمه انتخابی برای باکتری *Pss* عامل نوارقرمزنیشکر، ابتدا آزمون آنتی‌بیوگرام با استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های مختلف روی جدایه‌های *Pss* انجام شد. با کشت سوسپانسیون حاصل از شستشوی سطحی برگ‌های سالم نیشکر ۸ جدایه باکتری (غیر *Pss*) به‌دست آمد. سپس آنتی‌بیوتیک‌هایی که جدایه‌های *Pss* نیشکر نسبت به آنها مقاومت داشتند، انتخاب و آزمون آنتی‌بیوگرام این آنتی‌بیوتیک‌ها (شرکت پادتن طب) برروی جدایه‌های اپی‌فیت سطح برگ نیشکر (غیر *Pss*) انجام گردیدند. از آنتی‌بیوتیک‌هایی که بیشتر جدایه‌های اپی‌فیت غیر *Pss* نسبت به آنها حساسیت داشتند Cephalexin، Vancomycin و Penicillin انتخاب گردید. محیط کشت‌های King B (کینگ و همکاران، ۱۹۵٤) و NAS تهیه و اتوکلاو گردید و در هنگام سرد شدن مقادیر مشخص شده ۳ آنتی‌بیوتیک مذکور با مقادیر زیر به آنها اضافه شد:

۱- Cephalexin با مقادیر ٦۰، ۱۰۰، ۸۰ و ۱۲۰ میکروگرم در میلی‌لیتر

۲- Vancomycin با مقادیر ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر

۳ـ Penicillin با مقادیر ٤۰، ٦۰، ۸۰ و ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر

سوسپانسیون جدایه‌های *Pss* نیشکر با رقت 10^3 سلول در میلی‌لیتر تهیه شد و ۰/۱ میلی‌لیتر آن روی تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت‌های حاوی آنتی‌بیوتیک‌های بالا (با مقادیر و نسبت‌های مختلف) ریخته شد و سپس به وسیله لوله شیشه‌ای خمیده به‌طور کامل در سطح محیط پخش گردید. از محیط کشت‌های NAS و KB بدون آنتی‌بیوتیک نیز به‌عنوان شاهد استفاده شد. برای هر محیط کشت دو تکرار در نظر گرفته شد.

ارزیابی و شمارش کلونی پس از ۳ـ۲ روز قرار دادن تشتک‌های پتری در دمای ۲ ±۲٦ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. با مقایسه تعداد کلونی در محیط کشت‌های با و بدون آنتی‌بیوتیک بهترین مقدار آنتی‌بیوتیک‌ها که برای جدایه‌های *Pss* نیشکر بازدارنده نبود، تعیین گردید.

نمونه‌برداری از علف‌های هرز مزارع نیشکر مازندران: در ماه‌های آبان و دی ۱۳۸۰ و خرداد ۱۳۸۱ از مزارع نیشکر استان مازندران بازدید به عمل‌آمد و از هر مزرعه از کلیه قسمت‌های رویشی مانند برگ‌ها و ساقه علف‌های هرز یک نمونه بدون علایم نمونه‌برداری شد (لیندمن و همکاران، ۱۹۸٤). از علف‌های هرزی که دارای علایم مشکوک و یا شبیه به لکه‌های نوارقرمزنیشکر بود نیز جداگانه نمونه‌برداری گردید. علف‌های هرز نمونه‌برداری شده عبارت بودند از: قیاق (*Sorghum halopens*)، مرغ (*Cynodon dactylon*)، ارزن (*Panicum repens*)، پیچک (*Convolvulus sp.*)، تاج خروس (*Amaranthus retroflexus*)، تاجریزی سیاه (*Solanum nigrum*)، خونی‌واش (*Phalaris minor*)، سلمک (*Chenopodium album*)، ذرت (*Zea mays*)، نی (*Phrgmitis cummunis*)، توت فرنگی (*Fragaria annanas*)،آفتابگردان

(*Helianthus annus*)، فرفیون (*Euphorbia* spp.) و چسبک (*Setaria viridis*).

جداسازی و تعیین جمعیت *Pss* روی علف‌های هرز جمع‌آوری شده از مزارع: جداسازی و تعیین جمعیت باکتری براساس روش لیندمن و همکاران (۱۹۸٤) با کمی تغییرات انجام شد (لیندمن و همکاران، ۱۹۸٤). از هر نمونه علف هرز به طور تصادفی ۳ گرم بافت تازه گیاهی انتخاب و به وسیله قیچی سترون قطعه قطعه شد و در ٦۰ میلی لیتر بافرشستشو (٦/۲۵ گرم KH_2PO_4، ۸/۷۵ گرم K_2HPO_4، یک گرم باکتوپپتون (Difco) در یک لیتر آب با pH ۷ که اتوکلاو شده بود، ریخته شد و به مدت یک ساعت روی شیکر تکان داده شد. سوسپانسیون به‌دست آمده تا غلظت 10^{-7} رقیق و به وسیله میکروپیپت، ۰/۱ میلی‌لیتر از رقت‌های مناسب به تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت نیمه انتخابی NAS با غلظت‌های ۸۰،۲۰،٦۰ و ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر به‌ترتیب آنتی بیوتیک‌های سفالکسین، وانکومایسین، پنی سیلین و سیکلوهگزامید انتقال داده شد و به کمک لوله شیشه‌ای خمیده به طور یکنواخت در سطح محیط پخش گردید. برای هر رقت سه تکرار در نظر گرفته شد. پس از نگهداری تشتک‌های پتری کشت شده در دمای ۲±۲٦ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳-۲ روز، کلونی‌های *Pss* که متمایز از سایر کلونی‌ها بودند، شمارش شدند. تعداد باکتری در سوسپانسیون اولیه تعیین و براساس آن جمعیت تعداد باکتری در هر گرم بافت تازه گیاهی و لگاریتم آن محاسبه گردید.

نتایج

تعیین جمعیت اپی‌فیتی *Pss* روی علف‌های هرز متداول مزارع نیشکرمازندران: جمعیت اپی‌فیتی *Pss* روی علف‌های هرز مزارع نیشکر در استان مازندران در آبان و دی ۱۳۸۰ و خرداد ۱۳۸۱ محاسبه گردید. جمعیت اپی‌فیتی *Pss* روی علف‌های هرز در هر سه دوره نمونه‌برداری با هم متفاوت بود، به‌علاوه جمعیت روی هر علف هرز با سایر علف‌های هرز دیگر تفاوت داشت. جمعیت اپی‌فیتی *Pss* روی علف‌های هرز مختلف در هر سه مرحله نمونه‌برداری در جدول ۱ به صورت لگاریتم تعداد سلول زنده در هر گرم بافت تازه گیاهی[1] آمده است. از نرم افزار MSTAT برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده گردید.

دول ۱۱- جمعیت اپی‌فیتی *Pss* روی علف‌های هرز متداول مزارع نیشکر مازندران (لگاریتم تعداد سلول زنده به ازاء هر گرم بافت تازه گیاهی).

علف هرز	خرداد ۱۳۸۱		آبان ۱۳۸۰		دی ۱۳۸۰	
	تکرار اول	تکرار دوم	تکرار اول	تکرار دوم	تکرار اول	تکرار دوم
چسبک	۵/۳۰	۵/۱۸	-	-	-	-
مرغ	۳/۹۲	۳/٤۸	۷/۲۱	٦/۸۹	۸/۳۲	۸/۱٤
خونی‌واش	۱/۲۸	۱/۲۰	۷/۰۰	۷/۰۸	۷/٦۹	۸/۰٤
ذرت	۱/۷۱	۱/۵۵	۷/۱٤	۷/۲۰	۸/۲۱	۸/۷۲
تاج خروس	۱/۹۷	۱/۸۳	٦/۷۹	۷/۰۵	۷/۹۷	۷/٤۵
قیاق	۱/۲٦	۱/۰۱	۷/۲۹	۷/۳۱	۷/۱٦	٦/۹۳
نی	۰/۸۸	۰/۷۵	۵/۳۲	۵/۳۳	۵/٦۹	۵/۱۲
تاجریزی سیاه	۰	۰/۰۳	۳/۸٦	۳/۵۹	۳/۹۱	۲/۹٤
پیچک صحرایی	۰/۹۱	۰/۹۰	۲/٦۳	۲/۹٤	-	-
سلمک	۰	۰	۱/٤۵	۰/٦۵	۲/۷۵	۲/٤٦
توت فرنگی	۰	۰	۰/۸٤	۰/٦۷	-	-
آفتابگردان	-	-	۱/۲۳	۰/۹۷	-	-
فرفیون	-	-	-	-	۱/٦۳	۱/٤۰

هر عدد میانگین جمعیت در رقت‌های مختلف سوسپانسیون حاصل از شستشوی بافت گیاهی در سه تکرار است.

-: عدم تعیین جمعیت باکتری به علت عدم وجود گیاه در زمان نمونه‌برداری در مزرعه

1- Log cfu/g fresh weight

جمعیت اپی‌فیتی *Pss* روی علف‌های هرز مزارع نیشکر مازندران در آبان ۱۳۸۰: همه گونه‌های علف هرز نمونه‌برداری شده در آبان ۱۳۸۰ دارای جمعیت قابل توجهی از *Pss* در سطح برگ‌های خود بودند. تجزیه واریانس جمعیت اپی‌فیتی *Pss* در آبان ۱۳۸۰ در جدول ۲ خلاصه شده است.

جمعیت اپی‌فیتی *Pss* بین تکرارهای نمونه‌گیری روی هر علف هرز اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ولی بین جمعیت اپی‌فیتی *Pss* روی علف‌های هرز مختلف اختلاف بسیار معنی‌داری ($P < 0.00001$) مشاهده گردید.

مقایسه میانگین سطح جمعیت اپی‌فیتی *Pss* موجود روی علف‌های مختلف در آبان ۱۳۸۰ بر پایه آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام گردید. گونه‌های مختلف گیاهی از نظر توانایی نگهداری جمعیت اپی‌فیتی *Pss* به ۵ گروه قابل تقسیم بودند. بیشترین جمعیت *Pss* به‌ترتیب روی قیاق، ذرت، مرغ، خونی‌واش، تاج‌خروس، نی، تاجریزی سیاه، پیچک صحرایی، آفتابگردان، سلمک و توت فرنگی دیده شد (جدول ۳).

جمعیت اپی‌فیتی *Pss* روی علف‌های هرز مزارع نیشکر مازندران در دی ۱۳۸۰: علف‌های هرز مورد بررسی مزارع در دی ۱۳۸۰ جمعیت اپی‌فیتی نسبتاً بالایی از *Pss* را در سطح خود داشتند. با استفاده از جدول تجزیه واریانس مشخص گردید که در دی ۱۳۸۰ جمعیت اپی‌فیتی *Pss* بین تکرارهای نمونه‌گیری روی هر گونه علف هرز اختلاف معنی‌داری ندارد ولی بین جمعیت اپی‌فیتی *Pss* در سطح علف‌های هرز مختلف اختلاف بسیار معنی‌داری ($p < 0.0001$) وجود داشت (جدول ٤).

جدول ۲- تجزیه واریانس جمعیت اپی‌فیتی *Pss* روی علف‌های هرز مزارع نیشکر مازندران در آبان ۱۳۸۰.

منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربع ها
تکرار	۱	۰/۸۷$^{n.s}$
علف‌های هرز	۱۰	۱۵/۰٤۷***
خطا	۱۰	۰/۰۵۰
کل	۲۱	

ضریب تغییرات(C.V.): ٤/۹۰درصد n.s= عدم تفاوت معنی‌دار *** = معنی دار در سطح $P < 0.001$

جدول ۳- مقایسه علف‌های هرز مختلف براساس میانگین سطح جمعیت اپی‌فیتی *Pss* آنها در مزارع نیشکر مازندران در آبان ماه ۱۳۸۰ (بر پایه آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح پنج درصد).

علف هرز	میانگین جمعیت *Pss* (لگاریتم تعداد سلول)	گروه بندی آماری
قیاق	۷/۳۰۰	A*
ذرت	۷/۱۷۰	A
مرغ	۷/۰۵۰	A
خونی واش	۷/۰٤۰	A
تاج‌خروس	٦/۹۲۰	A
نی	۵/۱۷۵	B
تاجریزی سیاه	۳/۷۲۵	C
پیچک‌صحرایی	۲/۷۸۵	D
آفتابگردان	۱/۱۰۰	E
سلمک	۱/۰۵۰	E
توت فرنگی	۰/۷۵۵۰	E

میانگین مربع‌های خطا (EMS)= ۰/۰ ۵۰۰۰ *حروف غیر مشابه نشانگر اختلاف معنی دار در سطح ٪۵ است.

جدول ٤-تجزیه واریانس جمعیت اپی‌فیتی *Pss* در سطح علف‌های هرز مزارع نیشکر مازندران در دی ماه ۱۳۸۰.

منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین
تکرار	۱	۰/۲۵۲ n. s.
علف های هرز	۸	۱٤/۲۰۹***
خطا	۸	۰/۱۰۲
کل	۱۷	

ضریب تغییرات (C.V.)= ٪۵/۵۱ n. s.= عدم تفاوت معنی دار *** = معنی‌دار در سطح p < /۰۰۱

گونه‌های مختلف علف‌های هرز براساس میانگین سطح جمعیت اپی‌فیتی *Pss* روی آنها در دی ۱۳۸۰ با آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد مقایسه شدند. علف‌های هرز از نظر توانایی نگهداری جمعیت اپی‌فیتی *Pss* به ٦ گروه تقسیم گردیدند در گروه اول که بیشترین جمعیت *Pss* روی آنها مشاهده شده بود، به‌ترتیب گیاهان ذرت، مرغ، خونی‌واش و تاج‌خروس قرار گرفتند (جدول ۵).

جمعیت اپی‌فیتی *Pss* در سطح علف‌های مزارع نیشکر مازندران در خرداد ۱۳۸۱: جمعیت اپی‌فیتی *Pss* در روی علف‌های هرز مزارع نیشکر مازندران در خرداد ۱۳۸۱ متفاوت بود از جمله در روی چسبک و مرغ قابل توجه، روی گیاهانی مانند تاجریزی سیاه، سلمک و توت فرنگی میزان جمعیت صفر و روی سایر گیاهان نسبتاً کم بود. در خرداد ۱۳۸۱ بین تکرارهای نمونه‌گیری در هر گونه علف هرز اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۱) وجود داشت و بین جمعیت اپی‌فیتی *Pss* در سطح علف‌های هرز مختلف اختلاف معنی دار (P<۰/۰۰۰۱) مشاهده گردید (جدول ٦).

جدول ۵- مقایسه علف‌های هرز بر اساس میانگین سطح جمعیت اپی‌فیتی *Pss* روی آن‌ها در مزارع نیشکر بهمنیر در دی ماه ۱۳۸۰ (بر پایه آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح پنج درصد).

علف هرز	میانگین جمعیت *Pss* (لگاریتم تعداد سلول درگرم بافت تازه گیاهی)	گروه از نظر آماری
ذرت	۸/٤٦۵	A*
مرغ	۸/۲۳۰	A
خونی واش	۷/۸٦۵	A
تاج خروس	۷/۷۱۰	AB
قیاق	۷/۰٤۵	B
نی	۵/٤۰۵	C
تاجریزی سیاه	۳/٤۲۵	D
سلمک	۲/٦۰۵	E
فرفیون	۱/۵۱۵	F

میانگین مربع‌های خطا (EMS)=۰/۱۰۲۰ *حروف غیر مشابه نشانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

جدول ٦- تجزیه واریانس جمعیت اپی‌فیتی *Pss* درسطح علف‌های هرز مزارع نیشکر مازندران در خرداد ۱۳۸۱.

منبع تغییر	درجه‌آزادی	میانگین مربع‌ها
تکرار	۱	۰/۰۷۷*
علف‌های هرز	۱۰	۵/۳٤۷ ***
خطا	۱۰	۰/۰۰۹
کل	۲۱	

ضریب تغییرات (C. v.)= ٦/٤۰درصد *: معنی‌دار در سطح P <۰/۵۰ ***: معنی‌داری در سطح P <۰/۰۰۱

علف‌های هرز مزارع نیشکر مازندران در خرداد ۱۳۸۱ براساس میانگین سطح جمعیت اپی‌فیتی *Pss* روی آنها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن (در سطح پنج درصد) مقایسه شدند. گونه‌های مختلف علف هرز از نظر توانایی نگهداری جمعیت اپی فیتی *Pss* به ۷ گروه قابل تقسیم بودند. بیشترین جمعیت به‌ترتیب روی چسبک، تاج خروس، ذرت، خونی‌واش، قیاق، پیچک، نی و تاجریزی سیاه شمارش گردید و روی گیاهان سلمک و توت فرنگی جمعیت اپی‌فیتی *Pss* مشاهده نشد (جدول ۷).

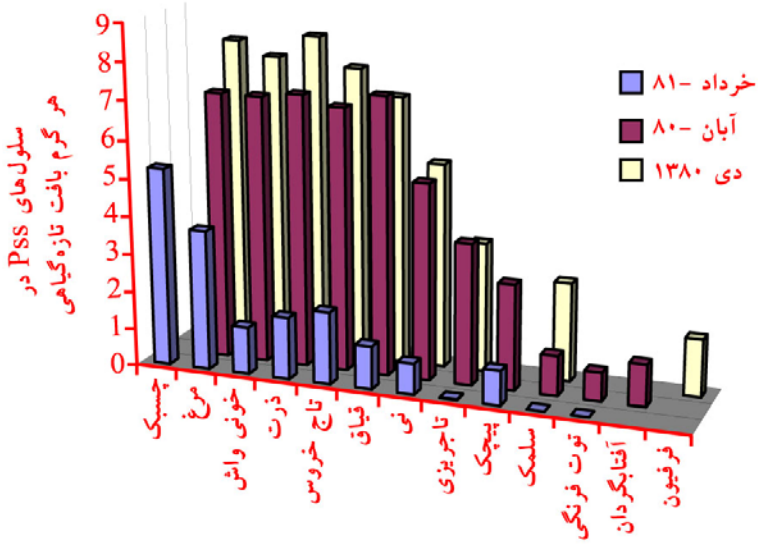
جمعیت اپی‌فیتی *Pss* روی علف‌های هرز در مزارع نیشکر مازندران در آبان و دی ۱۳۸۰ و خرداد ۱۳۸۱در شکل ۱ نمایش داده شده است.

جدول ۷- مقایسه علف‌های هرز مزارع نیشکر مازندران بر اساس میانگین سطح جمعیت اپی‌فیتی *Pss* در خرداد ۱۳۸۱ (بر پایه آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح پنج درصد).

علف هرز	میانگین جمعیت *Pss* (لگاریتم تعداد سلول در گرم بافت تازه گیاهی)	گروه از نظر آماری
چسبک	۵/۲۴۰	A*
مرغ	۳/۷۰۰	B
تاج خروس	۱/۹۰۰	C
ذرت	۱/۶۳۰	D
خونی‌واش	۱/۲۴۰	E
قیاق	۱/۱۳۵	E
پیچک	۰/۹۰۵۰	F
نی	۰/۸۱۵۰	F
تاجریزی سیاه	۰/۰۱۵۰۰	G
سلمک	۰/۰۰۰۰	G
توت فرنگی	۰/۰۰۰۰	G

میانگین مربع‌های خطا (EMS)= ۰/۰۰ ۹۰۰۰

* حروف غیر مشابه نشانگر وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵درصد است.



شکل ۱ - مقایسه جمعیت اپی‌فیتی *Pss* روی علف‌های هرز در مزارع نیشکر مازندران در ماه‌های آبان و دی ۱۳۸۰ و خرداد ۱۳۸۱.

بحث

در مقایسه جمعیت‌های اپی فیتی *Pss* روی علف‌های هرز مختلف در مزارع در ماه‌های خرداد، آبان و دی، بیشترین جمعیت روی چسبک، مرغ، خونی‌واش، قیاق، ذرت و تاج خروس وجود داشت. پایین‌ترین جمعیت اپی‌فیتی *Pss* در مزرعه روی گیاهان تاجریزی سیاه، سلمک، توت فرنگی، آفتابگردان، پیچک و فرفیون مشاهده شد. این گیاهان ممکن است به دلیل ویژگی‌های ساختاری و فیزیولوژیکی قادر به نگهداری جمعیت زیاد اپی فیتی باکتری نباشند. کینکل و همکاران (۲۰۰۰) گزارش کردند که گونه‌های گیاهی مختلف از نظر میزان جمعیت اپی‌فیتی قابل نگهداری روی خود با یکدیگر متفاوت می‌باشند و اندازه جمعیت ارتباط مستقیمی با ساختار گیاه دارد. برای مثال، گیاهانی که به‌صورت عمودی و ایستاده رشد می‌کنند نسبت به گیاهان با رشد کپه‌ای، جمعیت بیشتری از باکتری *Pss* را روی خود نگه می‌دارند و دلیل آن را کاهش جمعیت باکتری روی گیاهان کپه‌ای نزدیک به سطح خاک در اثر شرایط نامساعد محیطی و بخصوص خشکی بیان می‌کنند، در حالی که در گیاهان با رشد عمودی در شرایط نامساعد محیطی جمعیت روی برگ‌های مختلف کاهش یکسانی ندارد و روی بعضی از آنها جمعیت کمتر کاهش یافته و سپس در شرایط مساعد جمعیت افزایش می‌یابد و در نتیجه میانگین جمعیت که قابل ردیابی باشد بالاتر از گیاهان با رشد کپه‌ای است (کینکل و همکاران، ۲۰۰۰). نتایج این تحقیق با موارد فوق مطابقت دارد.

اندازه جمعیت اپی‌فیتی باکتری‌ها روی گیاهان می‌تواند متأثر از تفاوت‌های فیزیولوژیک بین برگ‌ها باشد که این خود ناشی از تفاوت میزان تراوش مواد غذایی همچون قندها، اسیدهای آمینه (مرسیر و لیندو، ۲۰۰۰)، سن برگ‌ها و فنولوژی میزبان (هیرانو و اپر، ۲۰۰۰) و تفاوت‌های میکروکلیمایی موقعیت برگ‌ها (مونت و لیسی، ۱۹۸۲) است.

جمعیت اپی فیتی *Pss* روی گیاهان در مزرعه در خرداد ماه خیلی کم بود که این احتمالاً به دلیل افزایش دمای هوا و کاهش رطوبت می‌باشد. هیرانو و همکاران (۲۰۰۰) طی تحقیقی بیان کردند که جمعیت باکتری‌های اپی‌فیت تحت تأثیر عوامل مختلف زیست محیطی مانند بارندگی، رطوبت نسبی، دما و نور خورشید می‌باشد و رطوبت از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است زیرا باکتری‌ها به آسانی در رطوبت بالا تکثیر می‌گردند. یاداو و همکاران (۲۰۰۵) نیز همبستگی مثبت اندازه جمعیت اپی‌فیتی باکتری‌ها را با تراکم تریکوم‌های (کرک‌های) غده‌ای و غیرغده‌ای، میزان آب و فسفر گیاهان از گونه‌های مختلف خاطر نشان کردند (یاداو و همکاران، ۲۰۰۵). ابرین و لیندو (۱۹۸۹) بیان کردند که گونه‌های گیاهی مختلف در شرایط طبیعی جمعیت‌های متفاوتی از *Pss* را حفظ می‌کنند، بنابراین پتانسیل ایجاد بیماری را با شدت متفاوت دارند.

در آبان ماه، به علت کاهش دما و افزایش رطوبت هوا و نیز بارش باران، جمعیت اپی‌فیتی *Pss* رشد بیشتری نسبت به خرداد ماه داشته است. در دی‌ماه به علت اینکه دما پایین بوده و به‌دلیل بارش باران‌های متوالی و افزایش رطوبت نسبی هوا که گاه به بالاتر از ۹۵ درصد می‌رسید، جمعیت اپی‌فیتی به‌طورکلی بیشترین مقدار را در طی سه ماه خرداد، آبان و دی که نمونه‌برداری صورت گرفت، نشان داد. در تحقیقاتی که توسط ارکولانی و همکاران (۱۹۷٤) و ولوداکیس و همکاران (۱۹۹۱) روی جمعیت اپی‌فیتی *Pss* و *Pst* صورت گرفته است، کاهش جمعیت در دمای بالا و رطوبت نسبی پایین و افزایش جمعیت در دمای متوسط و پایین و رطوبت نسبی بالا مشاهده شده است (ارکولانی و همکاران، ۱۹۷٤؛ ولوداکیس و همکاران، ۱۹۹۱).

در مجموع با مقایسه سطوح متفاوت جمعیت *Pss* روی علف‌های مختلف مزرعه در فصول مختلف می‌توان چسبک و مرغ را میزبان‌های اپی فیتی مناسبی برای زمستان‌گذرانی و تابستان‌گذرانی این باکتری به حساب

آورد، هر چند که جمعیت *Pss* روی گیاهان دیگری مانند قیاق، خونی واش، ذرت و تاج خروس در ماه‌های آبان و دی بالا بود (شکل ۱) ولی در خرداد ماه که دما بالا و رطوبت نسبی هوا پایین بوده و شرایط برای بقا *Pss* مناسب نمی‌باشد، جمعیت روی این گیاهان افت شدیدی نشان داده در حالی‌که چسبک و مرغ کماکان حامل جمعیت بالایی از *Pss* بودند. این دو علف هرز می‌توانند جمعیت‌های بالایی از جدایه‌های عامل نوارقرمزنیشکر را تا ماه‌های پاییز که شرایط برای آلودگی نیشکر فراهم می‌شود حمل نمایند.

منابع

1.Croft, B.J., 2000. Bacterial mottle. p. 26-27.In Rott, P., Bailey, R.A., Comstock, G.C., Croft, B.G.and Saumtally, S.A.(ed.) A guide to sugarcane diseases.CIRAD and ISSCT, France.

2.Ercolani, G.L., Hagedorn, D.G., Kelman, A., and Rand, R.E., 1974. Epiphytic survival of *Pseudomonas syringae* on hairy vetch in relation to epidemiology of bacterial brown spot of bean in Wisconsin. Phytopathology, 64: 1330–1339.

3.Fryda, S.J., and Otta, J.D., 1978. Epiphytic movement and survival of *Pseudomonas syringae* on spring wheat. Phytopathology, 68:1064-1067.

4.Giglioti, E.A., and Matsuoka, S., 2000. False red stripe. p. 27-31. In Rott, *P*., Bailey, R.A., Comstock, G.C., Croft, B.G., and Saumtally, S.A., (ed.) A guide to sugarcane diseases. CIRAD and ISSCT, France.

5.Hirano, S.S., and Upper, C.D., 2000. Bacteria in the leaf ecosystem with emphasis on *Pseudomonas syringae*- a pathogen ice nucleus and epiphyte. Microbiology and Molecular Biology Review, 64(3):624- 653.

6.King, E.O., Wood, M.K., and Raney, D.E., 1954. Two simple media for demonstration of pyocyanin and fluorescein. J. Lab. Clin. Med., 44:301-307.

7.Kinkel, l.l., Wilson, M. and lindow, S.E., 2000. Plant species and plant incubation conditions influences variability in epiphytic bacterial population size. Microb. Ecology , 39:1-11.

8.Mercier, J., and Lindow, S.E., 2000. Role of leaf surface sugars in colonization of plants by bacterial epiphytes. Applied and Environmental Microbiology, 66(1): 369-374.

9.Mount, M.S. and Lacy, G.H. 1982. Phytopathogenic Prokaryotes, Volume I. APS Press.Pp. 308-331.

10.Lindemman, L., Anny, D.C., and Upper, C.D., 1984. Epiphytic populations of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* on snap bean and nonhost plants and incidence of bacterial brown spot disease in relation to cropping patterns. Phytopathology, 74: 1329-33.

11.O'Brien, R.D., and Lindow, S.E., 1989. Effect of plant species and environmental conditions on epiphytic population size of *Pseudomonas syringae* and other bacteria. Phytopathology, 78: 619-27.

12.Rahimian, H., 1995. The occurrence of bacterial red streak of sugarcane caused by *Pseudomonas syringa* pv. *syringae* in Iran. Phytopathology, 143: 321-324.

13.Rahimian, H., 2000. Red streak. p. 55-57. In Rott, P., Bailey, R.A., Comstock, G.C., Croft, B.G., and Saumtally, S. (ed.) A guide to sugarcane diseases. CIRAD and ISSCT ,France.

14.Voloudakis, A.E., Gitatis, R.D., Westbook, G.K., and Phatak, S.C., 1991. Epiphytic survival of *Pseudomonas syringa* pv. *syringae* and *P.s.* pv. *tomato* on tomato transplants in southern Georgia. Plant Dis., 75:672-675.

15.Yadav, R.K., Karamanoli, K., and Vokou, D., 2005. Bacterial colonization of the phyllosphere of mediterranian perennial species as influenced by leaf structural and chemical features. Microb. Ecology, 50 (2):185-96

16.Yano, H., Suyama, K., and Fuckgii, H., 1986. Causal bacteria isolated from red streak symptom of sugarcane leaves, and its control. Journal of Okinawa Agriculture, 21:24-28.

J. Agric. Sci. Natur. Resour., Vol. 14(2), June -July 2007
www.sid.ir
www.magiran.com/jasnr

Identifiation of epiphytic hosts of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* causing sugarcane red streak disease in Mazandaran fields

M. Khani[1], H. Rahimian[2] and G. Khodakaramian[3]
[1]College of Agriculture Darab, Shiraz University, [2]College of Agriculture Sari, Mazandaran University, [3]College of Agriculture, Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran

Abstract

The epiphytic population of the *Pss* strains causing red streak on weed species growing in and around sugarcane fields in Mazandaran in October and December 2001 and June 2002 were determined. The epiphytic population densities on *Setaria viridis , Cynodon dactylon , Phalaris minor , Sorghum halopens , Zea mays* and *Amaranthus retroflexus* were high , low and intermediate in December , June and October respectively.It seems that *Setaria viridis* and *Cynodon dactylon* are epiphytic hosts of *Pss* in sugarcane fields.

Keywords: Red streak; *Saccharum officinarum*; Epiphytic population; *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*