

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

* محسن خانی^۱، حشمت‌اله رحیمیان^۲ و غلام خداکریمیان^۳

^۱ مری بخش تکنولوژی تولیدات گیاهی دانشگاه شیراز، استاد گروه گیاهپزشکی دانشگاه مازندران،

^۲ استادیار گروه گیاهپزشکی دانشگاه بوعلی سینا، همدان

تاریخ دریافت: ۸۲/۱۰/۱۴؛ 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 ۱۳۸۱ بررسی 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 (۱۹۸۶) میلادی یک بیماری جدید باکتریایی را که به وسیله *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (*Pss*) ایجاد می‌شد، به عنوان بیماری نوار قرمز^۱ معرفی کردند (پانو و همکاران، ۱۹۸۶). رحیمیان (۱۹۹۵) این بیماری را روی نیشکرهای مزارع استان مازندران مشاهده کرد و مشخص نمود که علائم مشاهده

شده در مازندران شبیه علائم بیماری نوار قرمز مزارع ژاپن است (رحیمیان، ۱۹۹۵).

علائم این بیماری شامل لکه‌های متمایل به قرمز، خطی تا بیضوی به صورت 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

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 اپی فیتی بالای این باکتری روی ماشک به عنوان علف هرز مزارع لوبیا و شیوع بیماری لکه قهوه‌ای باکتریایی روی لوبیا در همان سال زراعی وجود داشت (ارکولانی و همکاران، ۱۹۷۴).

یک بررسی در زمینه جمعیت اپی فیتی باکتری *P. s. pv. syringae* روی یک نوع لوبیا^۲ 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 به صورت اپی فیتی با جمعیتی زیاد وجود دارد. گیاهان دیگری مانند بلوط، اقاچیا و چاودار که در اطراف مزارع لوبیا وجود داشتند، جمعیت اپی فیتی باکتری را فقط تا اندازه‌ای ولی نه در حد گیاه ماشک، در سطح خود داشتند (لیندمن و همکاران، ۱۹۸۴).

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 به عنوان میزبان اپی فیتی یا ثانوی باکتری *P.s.pv. syringae* 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 این رو کنترل علف‌های هرز مزارع نیشکر اهمیت دو

اواخر تابستان تا اوایل زمستان قابل مشاهده است و در زمین‌های پست و مرطوب مازندران بعد از سال ۱۳۶۸ 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 به صورت اپی فیتی^۱ 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 به عنوان میزبان اپی فیتی 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، ۱۹۶۳)، زردآلو، بادام، زیتون، رز و سرو (انگلیش و داویس، ۱۹۶۰) 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 به صورت اپی فیت 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 (۱۹۷۴) بر روی میزبان بقا اپی فیتی 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 اپی فیتی باکتری روی ماشک در ماه‌های اردیبهشت و خرداد (جمعیت بیش از 10^7 سلول در گرم بافت تازه) و کمترین (جمعیت 10^4 - 10^5 سلول در

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

۳- Penicillin با مقادیر ۴۰، ۶۰، 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 ۲-۳ روز قرار دادن تشتک‌های پتری در دمای 26 ± 2 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 عمل آمد و از هر مزرعه از کلیه قسمت‌های رویشی مانند برگ‌ها و ساقه علف‌های هرز یک نمونه بدون علائم نمونه‌برداری شد (لیندمن و همکاران، ۱۹۸۴). از علف‌های هرزی که دارای علائم مشکوک و یا شبیه به لکه‌های نوارقرمز نیشکر بود نیز جداگانه نمونه‌برداری گردید. علف‌های هرز نمونه‌برداری شده عبارت بودند از: قیاق (*Sorghum halopens*)، مرغ پیچک (*Convolvulus sp.*)، تاج خروس (*Amaranthus retroflexus*)، تاجریزی سیاه (*Solanum nigrum*)، خـونـی‌واش (*minor*)، ذرت (*Phalaris*)، سلمک (*Chenopodium album*)، توت (*Zea mays*)، نی (*Phragmites cummunis*)، توت فرنگی (*Fragaria annanas*)، آفتابگردان

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 نوارقرمز نیشکر، 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) بر روی جدایه‌های اپی‌فیت سطح برگ نیشکر (غیر *PSS*) انجام گردیدند. از آنتی‌بیوتیک‌هایی که بیشتر جدایه‌های اپی‌فیت غیر *PSS* نسبت به آنها حساسیت داشتند *Penicillin*، *Vancomycin*، *Cephalexin* و *King B* (کینگ و همکاران، ۱۹۵۴) 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 ۶۰، ۱۰۰، ۸۰ و ۱۲۰ میکروگرم در میلی‌لیتر

نگهداری تشک‌های پتری کشت شده در دمای 26 ± 2 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^۱ آمده است. از نرم افزار MSTAT برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده گردید.

(*Helianthus annuus*)، فریون (*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 (۱۹۸۴) با کمی تغییرات انجام شد (لیندمن و همکاران، ۱۹۸۴). از هر نمونه علف هرز به طور تصادفی ۳ گرم بافت تازه گیاهی انتخاب و به وسیله قیچی سترون قطعه قطعه شد و در ۶۰ میلی لیتر بافر شستشو (۶/۲۵ گرم KH_2PO_4 ، ۸/۷۵ گرم K_2HPO_4 ، یک گرم باکتوپتون (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 میلی لیتر از رقت‌های مناسب به تشک‌های پتری حاوی محیط کشت نیمه انتخابی NAS با غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰ میکروگرم در میلی لیتر به ترتیب آنتی بیوتیک‌های سفالکسین، وانکوماکسین، 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

دول ۱۱- جمعیت اپی‌فیتی *PSS* روی علف‌های هرز متداول مزارع نیشکرمازندران (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	۳/۴۸	۷/۲۱	۶/۸۹	۸/۳۲	۸/۱۴
خونی‌واش	۱/۲۸	۱/۲۰	۷/۰۰	۷/۰۸	۷/۶۹	۸/۰۴
ذرت	۱/۷۱	۱/۵۵	۷/۱۴	۷/۲۰	۸/۲۱	۸/۷۲
تاج خروس	۱/۹۷	۱/۸۳	۶/۷۹	۷/۰۵	۷/۹۷	۷/۴۵
قیاق	۱/۲۶	۱/۰۱	۷/۲۹	۷/۳۱	۷/۱۶	۶/۹۳
نی	۰/۸۸	۰/۷۵	۵/۳۲	۵/۳۳	۵/۶۹	۵/۱۲
تاجریزی سیاه	۰	۰/۰۳	۳/۸۶	۳/۵۹	۳/۹۱	۲/۹۴
پیچک صحرايي	۰/۹۱	۰/۹۰	۲/۶۳	۲/۹۴	-	-
سلمک	۰	۰	۱/۴۵	۰/۶۵	۲/۷۵	۲/۴۶
توت فرنگی	۰	۰	۰/۸۴	۰/۶۷	-	-
آفتابگردان	-	-	۱/۲۳	۰/۹۷	-	-
فریون	-	-	-	-	۱/۶۳	۱/۴۰

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

۵ گروه قابل تقسیم بودند. بیشترین جمعیت PSS به ترتیب روی قیاق، ذرت، مرغ، خونی واش، تاج خروس، نی، تاجریزی سیاه، پیچک صحرایی، آفتابگردان، سلمک و توت فرنگی دیده شد (جدول ۳).

جمعیت اپی فیتی PSS روی علف‌های هرز مزارع نیشکر مازندران در دی ۱۳۸۰: علف‌های هرز مورد بررسی مزارع در دی ۱۳۸۰ جمعیت اپی فیتی نسبتاً بالایی از PSS را در سطح خود داشتند. با استفاده از جدول تجزیه واریانس مشخص گردید که در دی ۱۳۸۰ جمعیت اپی فیتی PSS بین تکرارهای نمونه‌گیری روی هر گونه علف هرز اختلاف معنی‌داری ندارد ولی بین جمعیت اپی فیتی PSS در سطح علف‌های هرز مختلف اختلاف بسیار معنی‌داری ($p < /...1$) وجود داشت (جدول ۴).

جمعیت اپی فیتی 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 اپی فیتی PSS در آبان ۱۳۸۰ در جدول ۲ خلاصه شده است.

جمعیت اپی فیتی PSS بین تکرارهای نمونه‌گیری روی هر علف هرز اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ولی بین جمعیت اپی فیتی PSS روی علف‌های هرز مختلف اختلاف بسیار معنی‌داری ($P < /00001$) مشاهده گردید.

مقایسه میانگین سطح جمعیت اپی فیتی 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 اپی فیتی PSS به

جدول ۲- تجزیه واریانس جمعیت اپی فیتی 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	۱۵/۰۴۷ ^{***}
خطا	۱۰	۰/۰۵۰
کل	۲۱	
ضریب تغییرات (C.V.): ۴/۹۰ درصد	n.s = عدم تفاوت معنی‌دار	*** = معنی دار در سطح $P < /001$

جدول ۳- مقایسه علف‌های هرز مختلف براساس میانگین سطح جمعیت اپی فیتی 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	۷/۰۴۰	A
تاج خروس	۶/۹۲۰	A
نی	۵/۱۷۵	B
تاجریزی سیاه	۳/۷۲۵	C
پیچک صحرایی	۲/۷۸۵	D
آفتابگردان	۱/۱۰۰	E
سلمک	۱/۰۵۰	E
توت فرنگی	۰/۷۵۵۰	E

*حروف غیر مشابه نشانگر اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ است. میانگین مربع‌های خطا (EMS) = ۰/۰۵۰۰۰

جدول ۴- تجزیه واریانس جمعیت اپی فیتی PSS در سطح علف‌های هرز مزارع نیشکر مازندران در دی ماه ۱۳۸۰.

منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین
تکرار	۱	۰/۲۵۳ ^{n. s.}
علف‌های هرز	۸	۱۴/۲۰۹ ^{***}
خطا	۸	۰/۱۰۲
کل	۱۷	

ضریب تغییرات (C.V.) = ۵/۵۱٪ = n. s. = عدم تفاوت معنی دار *** = معنی‌دار در سطح $p < ۰/۰۱$

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 اپی فیتی PSS در سطح علف‌های هرز مختلف اختلاف معنی‌دار ($P < ۰/۰۰۰۱$) مشاهده گردید (جدول ۶).

گونه‌های مختلف علف‌های هرز براساس میانگین سطح جمعیت اپی فیتی PSS روی آنها در دی ۱۳۸۰ با آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد مقایسه شدند. علف‌های هرز از نظر توانایی نگهداری جمعیت اپی فیتی PSS به ۶ گروه تقسیم گردیدند در گروه اول که بیشترین جمعیت PSS روی آنها مشاهده شده بود، به ترتیب گیاهان ذرت، مرغ، خونی‌واش و تاج‌خروس قرار گرفتند (جدول ۵).

جمعیت اپی فیتی PSS در سطح علف‌های مزارع نیشکر مازندران در خرداد ۱۳۸۱: جمعیت اپی فیتی PSS در

جدول ۵- مقایسه علف‌های هرز بر اساس میانگین سطح جمعیت اپی فیتی PSS روی آنها در مزارع نیشکر بهمینیر در دی ماه ۱۳۸۰ (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
ذرت	۸/۴۶۵	A*
مرغ	۸/۲۳۰	A
خونی‌واش	۷/۸۶۵	A
تاج‌خروس	۷/۷۱۰	AB
قیاق	۷/۰۴۵	B
نی	۵/۴۰۵	C
تاجریزی سیاه	۳/۴۲۵	D
سلمک	۲/۶۰۵	E
فرفیون	۱/۵۱۵	F

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

جدول ۶- تجزیه واریانس جمعیت اپی فیتی PSS در سطح علف‌های هرز مزارع نیشکر مازندران در خرداد ۱۳۸۱.

منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربع‌ها
تکرار	۱	۰/۰۷۷*
علف‌های هرز	۱۰	۵/۳۴۷ ^{***}
خطا	۱۰	۰/۰۰۹
کل	۲۱	

ضریب تغییرات (C. V.) = ۶/۴۰ درصد * : معنی‌دار در سطح $P < ۰/۰۵۰$ *** : معنی‌داری در سطح $P < ۰/۰۰۱$

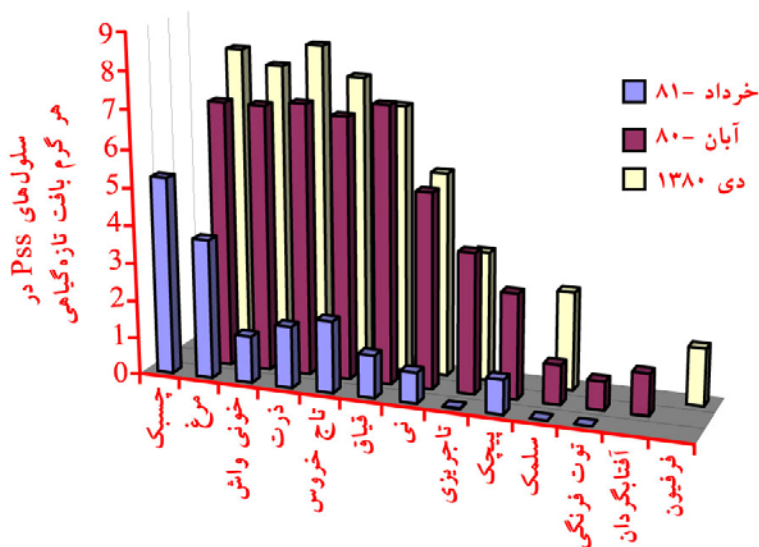
خروس، ذرت، خونی‌واش، قیاق، پیچک، نی و تاجریزی سیاه شمارش گردید و روی گیاهان سلمک و توت فرنگی جمعیت اپی‌فیتی *PSS* مشاهده نشد (جدول ۷).
 جمعیت اپی‌فیتی *PSS* روی علف‌های هرز در مزارع نیشکر مازندران در آبان و دی ۱۳۸۰ و خرداد ۱۳۸۱ در شکل ۱ نمایش داده شده است.

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 اپی‌فیتی *PSS* به ۷ گروه قابل تقسیم بودند. بیشترین جمعیت به‌ترتیب روی چسبک، تاج

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 <i>PSS</i> (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

* حروف غیر مشابه نشانگر وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد است. میانگین مربع‌های خطا (EMS) = ۰/۰۰۹۰۰۰



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

بحث

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 اپی فیت 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 اپی فیتی 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 اپی فیتی *PSS* رشد بیشتری نسبت به خرداد ماه داشته است. در دی ماه به علت اینکه دما پایین بوده و به دلیل بارش باران‌های متوالی و افزایش رطوبت نسبی هوا که گاه به بالاتر از ۹۵ درصد می‌رسید، جمعیت اپی فیتی به طور کلی بیشترین مقدار را در طی سه ماه خرداد، آبان و دی که نمونه‌برداری صورت گرفت، نشان داد. در تحقیقاتی که توسط ارکولانی و همکاران (۱۹۷۴) و ولوداکیس و همکاران (۱۹۹۱) روی جمعیت اپی فیتی *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، ۱۹۷۴؛ 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

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 اپی فیتی *PSS* در مزرعه روی گیاهان تاجریزی سیاه، سلمک، توت فرنگی، آفتابگردان، پیچک و فریون 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 اپی فیتی قابل نگهداری روی خود با یکدیگر متفاوت می‌باشند و اندازه جمعیت ارتباط مستقیمی با ساختار گیاه دارد. برای مثال، گیاهانی که به صورت 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 اپی فیتی 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 لیس، ۱۹۸۲) است.

نشان داده در حالی که چسبک و مرغ کماکان حامل جمعیت بالایی از *PSS* بودند. این دو علف هرز می‌توانند جمعیت‌های بالایی از جدایه‌های عامل نوآرقرمزنیشر را تا ماه‌های پاییز که شرایط برای آلودگی نیشر فراهم می‌شود حمل نمایند.

آورد، هر چند که جمعیت *PSS* روی گیاهان دیگری مانند قیاق، خونی‌واش، 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

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, I.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., Westbrook, 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 mediterranean 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.

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

M. Khani¹, H. Rahimian² and G. Khodakaramian³

¹College of Agriculture Darab, Shiraz University, ²College of Agriculture Sari, Mazandaran University, ³College 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*