شناسایی سویه‌های باکتری مولد سوختگی برگ گندم در استان فارس و کهگیلویه و بویراحمد و واکنش ارقام مختلف گندم نسبت به آنها

سید محسن تقوی و کاووس کشاورز[۱]

چکیده

این پژوهش به منظور شناسایی سویه‌ها و پراکندگی باکتری عامل سوختگی برگ گندم در دو استان فارس و کهگیلویه و بویراحمد، شناسایی علف‌های هرز میزبان، تعیین بذرزاد بودن باکتری، و همچنین واکنش ارقام مختلف گندم نسبت به آنها انجام گرفته است. طی دو فصل زراعی ۱۳۷۶ و ۱۳۷۷ از مزارع مختلف گندم آبی دو استان نمونه‌برداری شد. نمونه‌ها روی محیط کشت KB کشت داده شد. آزمون‌های LOPAT روی ۱۸۱ جدایه، که توانایی تولید رنگ فلورسنت روی محیط KB داشتند، صورت گرفت. پس از انجام این آزمون‌ها، تعداد ۳۹ جدایه، که دارای ویژگی‌های مختلف بودند، به عنوان نماینده انتخاب و آزمون‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک و بیماری‌زایی روی آنها انجام شد.

بر اساس نتایج به دست آمده، جدایه‌هایی که تولید رنگ فلورسنت کردند به پنج گروه تقسیم شدند، که یک گروه از آنها Pseudomonas fluorescens (Pf) و چهار گروه دیگر Pseudomonas syringae pv. *syringae (Pss)* بودند. عامل بیماری سوختگی برگ گندم در این دو استان جدایه‌های Pss تشخیص داده شد. نقوش الکتروفورزی پروتئین جدایه‌های Pss از گندم، جو و علف‌های هرز با هم شباهت‌های کلی داشتند، و فقط تعدادی از آنها که در یک یا چند واکنش بیوشیمیایی با هم متفاوت بودند در نحوه قرار گرفتن نوارهای فرعی و اصلی با هم تفاوت داشتند. همچنین، Pss از علف‌های هرز یکساله نظیر دم روباهی، ماشک، یولاف وحشی و جو موشی و مرغ در چند منطقه از جمله سعادت‌شهر و مرودشت جداسازی و بیماری‌زایی آن به اثبات رسید. از بین ارقام مورد آزمایش، گندم رقم تجن حساس و ارقام دیگر مصون، مقاوم، نیمه مقاوم و نیمه حساس ارزیابی شدند. بر اساس نتایج به دست آمده، Pss قادر است به صورت بذرزاد روی بذور گندم زندگی کند، و به احتمال زیاد به صورت اندوفیت در بذر به سر می‌برد.*

واژه‌های کلیدی: *سوختگی برگ، گندم، Pseudomonas syringae* pv. *syringae، مقاومت*

---

۱. به ترتیب دانشیار و دانشجوی سابق کارشناسی ارشد گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1381.6.4.14.7]

مقدمه

گندم (*Triticum aestivum* L.) به عنوان ضروری‌ترین و مهم‌ترین محصول کشاورزی، در تمام جهان دارای ارزش استراتژیک بسیاری است، و نقش آن در تغذیه انسان به حدی است که کمبود آن به ویژه در کشورهای در حال توسعه، می‌تواند آثار سوء اجتماعی و سیاسی بر جای بگذارد (۵ و ۱۱).

تاکنون بیماری‌های باکتریایی مختلفی از روی گندم گزارش شده است. بیماری سوختگی برگ گندم ناشی از باکتری *Pseudomonas syringae* pv. *syringae (Pss)* انتشار جهانی دارد و هر ساله خسارت زیادی بر مزارع گندم وارد می‌کند (۱۸ و ۱۹). این بیماری نخستین بار در سال ۱۹۷۲ توسط اوتا (۱۷) از روی گندم زمستانه گزارش گردید و عامل آن *Pss* معرفی شد. پس از آن *Pss* از کشورهای آفریقای جنوبی، استرالیا، فرانسه، ایتالیا، نیوزلند، بلغارستان، مصر، شیلی و بنگلادش گزارش گردید (۸، ۱۷، ۱۸، ۲۴ و ۲۶). این باکتری علاوه بر بیماری‌زا بودن، می‌تواند به عنوان هسته یخ عمل کند، و در مناطق سردسیری باعث سرمازدگی و خسارت زیاد شود (۱۵).

اوتا (۱۹) در سال ۱۹۷۷ گونه‌های سودوموناس بیماری‌زا را از ۲۱ نمونه بذر گندم زمستانه در ایالات نبراسکا، داکوتای جنوبی، داکوتای شمالی، آلبرتا و ساسکاچوان کانادا جداسازی کرد. میزان آلودگی بذری ناشی از باکتری *Pss* روی ۲۱ نمونه گندم زمستانه جمع‌آوری شده از نبراسکا و داکوتای جنوبی ۲-۵ درصد بر آورد شده است. هم‌چنین، این باکتری می‌تواند به صورت اپی‌فیت روی بذور گندم زندگی کند (۱۲).

افزون بر این، جدایه‌های سودوموناس از برگ‌های بیمار گندم، ذرت (*Zea mais*)، دم روباهی (*Alopecurus grostis*) سورگوم (*Sorghum bicolor*) و جدایه *P. syringae (Ps)* از بذرهای گندم، از نظر ویژگی‌های بیوشیمیایی، سرولوژی و یا بیماری‌زایی مقایسه شده است (۱۹).

باکتری *Pss* دارای سویه‌های زیادی است. سویه‌های جدا شده از گندم، سورگوم و درختان میوه هسته‌دار و دانه‌دار از نظر سرولوژیک، بیوشیمیایی و بیماری‌زایی متفاوت بوده‌اند، ولی سویه‌های جدا شده از گندم مناطق مختلف تفاوت چشم‌گیری نداشته‌اند (۱۹).

در ایران این بیماری تاکنون از مزارع گندم استان‌های کرمان و چهارمحال و بختیاری و فارس گزارش شده است (۱، ۲ و ٤). پژوهش حاضر به منظور تعیین پراکنش بیماری در نقاط مختلف استان‌های فارس و کهگیلویه و بویراحمد، شناسایی سویه‌های باکتری عامل بیماری، میزان بذرزاد بودن و علف‌های هرز میزبان باکتری، و نیز مقاومت ارقام رایج و تجارتی گندم صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و جداسازی

طی دو فصل زراعی سال‌های ۱۳۷٦ و ۱۳۷۷، برگ‌های گندم و علف‌های هرز حاشیه و داخل مزارع مناطق مهارلو، مرودشت، سعادت‌شهر، آباده، اقلید، کوار، ظفرآباد، زرقان، شیراز، داراب، فسا، نی‌ریز، سپیدان، کازرون، ممسنی، بیضا، باجگاه و ظفرآباد از استان فارس، و یاسوج و گچساران از استان کهگیلویه و بویراحمد، که دارای علائمی شبیه به سوختگی بودند، جمع‌آوری و برای بررسی به آزمایشگاه منتقل شد. نمونه‌های مشکوک پس از شست‌شو با آب به قطعات کوچک ۱-۲ سانتی‌متری تقسیم، و در لوله حاوی آب مقطر سترون قرار گرفته و نیم ساعت با شیکر دورانی به هم زده شدند. یک لوپ از سوسپانسیون به دست آمده به محیط کشت KB انتقال (۹ و ۲۳) و به کمک شیشه‌ای خمیده به طور کاملاً یک‌نواخت در سطح محیط پخش، و برای رشد در ۲۵°C به مدت ٤۸ ساعت نگهداری شده، کلنی‌هایی که تولید رنگ فلورسنت کرده بودند جداسازی و روی محیط کشت آگار غذایی (NA) کشت گردیدند.

بررسی ویژگی‌های فنوتیپی جدایه‌ها

آزمون‌های LOPAT شامل تولید لوان، اکسیداز، له کردن سیب زمینی، آرژنین دی‌هیرولاز و فوق حساسیت روی شمعدانی و

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1381.6.4.14.7]

توتون، روی ۱۸۱ جدایه از جدایه‌هایی که توانایی تولید رنگ فلورسنت روی محیط KB داشتند، به روش لیلیوت و همکاران (۱٤) صورت گرفت. پس از انجام آزمون LOPAT، ۳۹ جدایه به عنوان نماینده جدایه‌ها انتخاب و آزمون‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک، مانند تولید اوره‌آز، کاتالاز، فسفاتاز، احیای نیترات، ذوب ژلاتین، هیدرولیز نشاسته، هیدرولیز تویین، هیدرولیز آسکولین، هیدرولیز کازئین، تولید ۳-کتولاکتوز، تولید گاز هیدروژن سولفوره از سیستئین، آزمون رشد بی‌هوازی یا نیاز به اکسیژن (O/F)، متیل‌رد و تولید استویین، تحمل به نمک طعام، استفاده از سیترات، رشد در دمای ٤۱°C و استفاده از منابع کربنی و آنتی‌بیوگرام با استفاده از روش‌های استاندارد باکتری‌شناسی روی آنها انجام گردید (۹، ۱۰ و ۲۳).

مقایسه نقوش پروتئینی سویه‌ها

سویه‌هایی به عنوان سویه‌های دارای واکنش یکسان به آزمون‌های بیوشیمیایی، فیزیولوژیک و تغذیه‌ای انتخاب، و به روش الکتروفورز در ژل ناپیوسته پلی‌اکریل آمید (Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis) از لحاظ نقوش پروتئینی مقایسه شدند (۳ و ۷). از *Pss* جدا شده از نیشکر در مازندران (اهدایی دکتر حشمت‌الله رحیمیان) به عنوان سویه استاندارد، و هم‌چنین از سویه‌های این باکتری که از گندم، جو، علف‌های هرز و بادام جدا شده بود، برای مقایسه نقوش پروتئینی استفاده شد.

اثبات بیماری‌زایی

بذور گندم رقم تجن در هیپوکلریت سدیم دو درصد ضدعفونی، و در گلدان‌های حاوی خاک سترون کاشته شد. سوسپانسیونی با غلظت 10^6 CFU (تهیه شده به روش اسپکتروفتومتری) از کشت ٤۸ ساعته باکتری تهیه و مایه‌زنی به روش تزریق داخل بافت برگ و پاشیدن سوسپانسیون باکتری به هر دو طرف برگ در مرحله به ساقه رفتن انجام شد. پیش از مایه‌زنی، سطح برگ خراش داده شد. برای شاهد از آب مقطر سترون استفاده گردید (۲۵).

بررسی مقاومت ارقام رایج و تجاری گندم

برای بررسی مقاومت، ارقام گندم زاگرس، سمیره، لانیش، Fr316، TR80، سرخ‌تخم، نیک‌نژاد، بیات، فلات مهدوی، الموت، M73-5، Caspard، روشن، M-73-4، بزوستایا، اروند موتانت، M-73-18-مارون-نوید، اروند، زرین، Siosan، کاوه، هیرمند، اترک، کراس آزادی، قدس، گلستان، تجن، داراب دو، و دو رقم جو شش پر و جو ایذه به کار رفت. بذور ارقام فوق در هیپوکلریت سدیم ۲٪ ضدعفونی، و پس از شست‌شو با آب مقطر سترون، در گلدان‌های حاوی خاک سترون کاشته شدند.

سوسپانسیونی با غلظت 1×10^6 CFU از باکتری *Pss*، که بیماری‌زایی آن به اثبات رسیده بود، به روش تزریق داخل بافت برگ و پاشیدن روی برگ‌های جوان در مرحله ساقه رفتن مایه‌زنی گردید، و گلدان‌ها به مدت ٤۸ ساعت زیر کیسه پلاستیکی در گلخانه قرار گرفتند. شاهد نیز با آب سترون مایه‌زنی شد. برای ارزیابی ارقام از روش واسیلف و همکاران (۲۵) استفاده شد. گیاهان بدون نشانه آلودگی "۰"، گیاهان با نکروز موضعی در محل ایجاد زخم "۱"، گیاهان با لکه‌های ۱-۳ سانتی‌متری "۲"، گیاهان با زخم‌های سه میلی‌متری و هاله زرد مجاور محل مایه‌زنی "۳" و گیاهان با لکه‌های نکروز پخش شده در تمام سطح پهنک برگ "٤"، و به ترتیب پنج تیپ آلودگی مصون، مقاوم، نیمه مقاوم، نیمه حساس و حساس ارزیابی شد (۲۰ و ۲۵).

تعیین بذرزاد بودن باکتری

بذرزاد بودن ۷۰۰ بذر رقم گندم تجن و کراس آزادی که به طور مصنوعی به وسیله سوسپانسیون باکتری تلقیح شده بود، و هم‌چنین ۷۰۰ بذر رقم قدس که از مزارع کشاورزان به طور تصادفی جمع‌آوری شده بود، با استفاده از روش‌های شست‌شوی سطحی بذور (Liquid assay)، کشت مستقیم (Direct planting) و عصاره آرد بذور (Extraction from seed

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1381.6.4.14.7]

flour) و با کاربرد دو محیط کشت KBC و KB، بررسی گردید (٦ و ١٦ و ٢٢).

نتایج

از نمونه‌های جمع‌آوری شده طی دو فصل زراعی ١٣٧٦ و ١٣٧٧ در استان‌های فارس و کهگیلویه و بویراحمد، ١٨١ جدایه که توانایی تولید رنگ فلورسنت روی محیط کشت KB داشتند جداسازی، و ٣٩ جدایه به عنوان نماینده انتخاب، و دیگر آزمون‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک روی آنها انجام گرفت. جدایه‌های مذکور بر پایهٔ ویژگی‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک به پنج گروه تقسیم شدند (جدول ١):

گروه A: شامل باکتری‌های گرم منفی، میله‌ای شکل، هوازی اجباری، از لحاظ ایجاد واکنش فوق حساسیت، تولید لوان و له کردن ورقه‌های سیب زمینی منفی، ولی از لحاظ اکسیداز و هیدرولیز آرژنین مثبت بودند. کلنی‌های این باکتری روی محیط کشت NAS برجسته و به رنگ شیری به حاشیه نامنظم بود، و روی گندم بیماری‌زا نبودند.

گروه B: شامل باکتری‌های گرم منفی، تقریباً میله‌ای شکل، هوازی اجباری، از لحاظ اکسیداز، هیدرولیز آرژنین و له کردن ورقه‌های سیب زمینی منفی، و از لحاظ ایجاد واکنش فوق حساسیت و تولید لوان مثبت بودند. کلنی‌های این باکتری پس از سه روز روی محیط کشت SNA به رنگ سفید، محدب (Convex) و با سطحی ناصاف دیده شد، و روی گندم بیماری‌زا نبودند.

گروه C : جدایه‌های این گروه از نظر ویژگی‌های بیوشیمیایی شبیه به گروه B بود، و تنها از نظر بیماری‌زایی روی گندم با گروه B فرق می‌کرد. این گروه روی علف‌های هرز حاشیه و داخل مزارع از جمله مرغ، دم روباهی، یولاف وحشی و ماشک به صورت اپی‌فیت زندگی می‌کردند.

گروه D : شامل باکتری‌های گرم منفی، میله‌ای شکل، هوازی اجباری، از لحاظ اکسیداز، هیدرولیز آرژنین، له کردن ورقه‌های سیب زمینی و تولید لوان منفی، ولی قادر به ایجاد واکنش فوق حساسیت و ایجاد بیماری روی گندم بودند.

گروه E : شامل باکتری‌های گرم منفی، میله‌ای شکل، هوازی اجباری، اکسیداز، آرژنین دی‌هیدرولاز، له کردن ورقه‌های سیب زمینی منفی، و از لحاظ ایجاد واکنش فوق حساسیت و تولید لوان مثبت بود. کلنی‌های این گروه پس از سه روز روی محیط کشت SAN به رنگ سفید، محدب و با سطحی ناصاف دیده شد، و روی گندم بیماری‌زا بودند. جدایه‌های این گروه فقط از گندم جدا شده، از روی علف‌های هرز حاشیه مزارع گندم جدا نشده‌اند.

ویژگی‌های دیگر جدایه‌ها در جدول ١ آمده است. بر پایهٔ این نتایج، گروه A، *P. fluorescens (Pf)* و چهار گروه B، C، D و E *P. syringae.* pv. *syringae (Pss)* شناسایی شد. تمام جدایه‌های گروه C، D، B و E نسبت به آمپی‌سیلین، لینگومایسین، کاروسیلین و توبرامایسین مقاوم بودند، و نسبت به بقیه آنتی‌بیوتیک‌ها از خود واکنش خیلی حساس، حساس و مقاوم نشان دادند.

نقوش الکتروفورزی پروتئین جدایه‌ها

نقوش الکتروفورزی پروتئین شماری از سودوموناس‌های فلورسنت جدا شده از برگ گندم و علف‌های هرز کاملاً یکسان هستند، ولی جدایه‌هایی از اینها دارای تفاوت‌هایی در نحوه قرار گرفتن نوارهای اصلی و فرعی بودند. جدایه‌های *Pss* از گندم و علف‌های هرز با جدایه‌های بادام و نیشکر مقایسه شدند.

تفاوت‌هایی از لحاظ قرار گرفتن نوارهای اصلی و فرعی بین *Pss* جدا شده از گندم و جو و نیشکر و علف‌های هرز با *Pss* از بادام مشاهده شد. در عین حال، *Pss* جدا شده از گندم و جو و علف‌های هرز و نیشکر شباهت‌های کلی با هم داشتند، ولی شماری از آنها در نحوه قرار گرفتن نوارهای اصلی و فرعی با هم تفاوت داشتند. نقوش پروتئینی *Pf* و *Pss* جدا شده از برگ‌های گندم با هم متفاوت بودند (شکل ١).

اثبات بیماری‌زایی

تمامی جدایه‌های *Pss*، بجز گروه B، روی گندم بیماری‌زا

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1381.6.4.14.7]

جدول ۱. ویژگی‌های فنوتیپی سودوموناس‌های فلورسنت کننده جدا شده از برگ‌های گندم، جو و علف‌های هرز حاشیه و داخل مزارع استان‌های فارس و کهگیلویه و بویراحمد (سال‌های ۱۳۷٦ تا ۱۳۷۷)

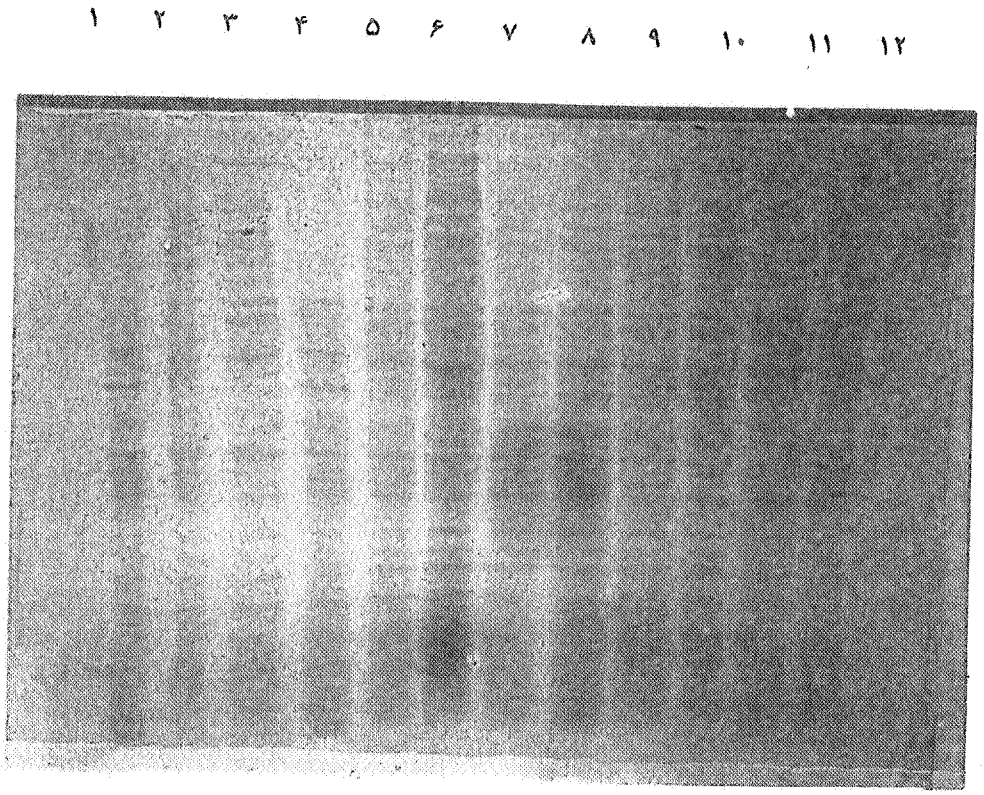
آزمون	گروه سویه‌ها				
	E(۱۵) [a]	C(۵) [a]	C(۵) [a]	B(۵) [a]	A(۹) [a]
واکنش گرم	−	−	−	−	−
تشکیل هسته یخ	+	+	+	+	+
تولید رنگ فلورسنت	+	+	+	+	+
ایجاد واکنش فوق حساسیت	+	+	+	+	−
آرژنین دی‌هیدرولاز	−	−	−	−	+
له کردن ورقه‌های سیب زمینی	−	−	−	−	−
اکسیداز	−	−	−	−	+
لوان	+	−	+	+	−
هیدرولیز ژلاتین	+	+	−	−	+
هیدرولیز نشاسته	−	−	−	−	−
هیدرولیز توین ۸۰	+	−	+	−	+
هیدرولیز کازوئین	+	+	−	−	−
احیای نیترات	−	−	−	−	+
سیترات	+	+	+	+	+
لسیتیناز	−	−	−	−	+
تحمل نمک ۵٪	+	+	+	+	+
تحمل نمک ٦٪	٪۳۰	٪۲۵	٪۳۰	٪۳۳	٪٤۰
اوره‌آز	+	+	+	+	−
کاتالاز	+	−	+	−	+
فسفاتاز	+	+	+	+	+
هیدرولیز اسکولین	−	−	+	+	+
تایروزیناز	+	+	+	+	−
رشد بی‌هوازی	−	−	−	−	−
تولید H_2S	+	−	−	+	−
متیل‌رد	−	.v	.v	.v	.v
اکسیداسیون گلوکونات	−	−	−	−	+
آربوتین	+	+	−	−	−
بیماری‌زایی روی گندم	لکه‌های نکروزه	لکه‌های نکروزه	لکه‌های نکروزه	.Nd	.Nd
استفاده از: گلوکز	+	+	+	+	+
آرابینوز	+	+	+	+	+
تری‌هالوز	+	+	+	+	+
سوربیتول	−	+	−	−	+
اریتریتول	+	−	+	−	+
مانیتول	−	−	+	+	+
زایلو	+	+	+	+	+
ساکارز	+	+	+	+	+
فروکتوز	+	+	+	+	+
دالسیتول	+	+	+	+	−
مانوز	+	−	+	−	+
اینوزیتول	+	+	+	+	+
ریبوز	+	+	+	−	+
مالتوز	−	−	−	+	+
لاکتوز	−	−	−	+	+

a= شمار سویه‌های بررسی شده در داخل پرانتز ذکر شده است. v = متغیر

Nd = علائمی دیده نشد.

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1381.6.4.14.7]



شکل ۱. نقوش الکتروفورزی پروتئین‌های سویه‌های *Pss* و *Pf* جدا شده از میزبان‌های مختلف
۱. *Pss* (گندم، مهارلو) ۲. *Pss* (گندم، مرودشت) ۳. *Pss* (مرغ، مرودشت) ٤. *Pss* (گندم، مرودشت) ۵. *Pss* (گندم، نی‌ریز) ٦. *Pss* (نیشکر) ۷. *Pss* (گندم، سعادت‌شهر) ۸ *Pf* (مرغ، مرودشت) ۹. *Pss* (بادام) ۱۰. *Pf* (گندم) ۱۱. *Pf* (بادام) ۱۲. *Pss* (گندم، مهارلو)

بودند. علائم ایجاد شده روی گندم نسبت به شاهد بـه صـورت لکه‌های آب‌سوخته، نکروز و کلروز دیده شد.

تعیین علف‌های هرز میزبان باکتری

از علف‌های هرز یکساله نظیر دم روباهی، ماشـک، جـو موشـی (*Hordeum murinum*) و یولاف وحشـی، و هـم‌چنیـن از مـرغ (*Cynodon dactylon*)، یک باکتری میله‌ای شـکل، گـرم منفـی، اکسیداز منفـی و هـوازی اجبـاری جداسـازی، و بـا اسـتفاده از آزمون‌های LOPAT و دیگر ویژگی‌های بیوشـیمیایی بـه عنـوان *Pss* شناسایی، و بیماری‌زایی آنها روی گندم بـا ایجـاد لکـه‌های نکروتیک به اثبات رسید.

مقاومت ارقام رایج و تجارتی گندم نسبت به باکتری *Pss*

از میان ارقام غلات مورد آزمایش، ارقـام گنـدم فـلات، TR80، C 73-5، Caspard و ارونـد موتـانت مصـون، ارقـام M-73-18، اروند، اترک، Fr316، سرخ تخم و نیک‌نژاد مقاوم، ارقـام بیـات، مهدوی الموت، M-47-73، Siosan و کـاوه نیمـه مقـاوم، ارقـام هیرمند، زاگرس، لانیش، آزادی بزوستایا، نوید، زریـن، گلسـتان، سیمره، روشن، مارون، کـراس آزادی، قـدس و داراب دو نیمـه حساس، و رقم تجن حساس بودند. هم‌چنین، دو رقم جو ایـذه و شش پر به ترتیب نیمه مقاوم و نیمه حساس بودند.

تعیین بذرزاد بودن باکتری عامل سوختگی برگ گندم

دویست بـذر از ارقـام تجـن، کـراس آزادی و قـدس در روش مستقیم (Direct planting of seed)، به ترتیب روی محیط نیمـه انتخابی KBC، ۸، ۵ و ۲ درصد کلنی فلورسـنت کننـده تشـکیل دادند. ولی در روش شست‌شوی سطحی (Liquid assay) روی هیچ کدام از دو محیط کشـت KB و KBC بـاکتری فلورسـنت

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-04-24]
[DOR: 20.1001.1.24763594.1381.6.4.14.7]

کننده جداسازی نگردید.

در روش عصاره‌گیری آرد بذور (Extraction from seed flour) از ۵۰۰ بذر آزمایش شده، باکتری فلورسنت در رقت 10^{-1} حداکثر CFU $5/4\times10^{3}$ و CFU $2/6\times10^{3}$، به ترتیب در ارقام تجن و کراس آزادی روی محیط کشت KBC پیدا شد، و کمترین کلنی مربوط به رقم قدس، که از مزارع کشاورزان به صورت تصادفی جمع‌آوری شده بود، روی محیط کشت KB به دست آمد. از بذور مذکور یک گروه جدایه‌های گرم و اکسیداز منفی روی محیط کشت‌های مذکور جداسازی و شناسایی شد، که قادر به ایجاد واکنش فوق حساسیت روی توتون و بیماری‌زا روی گندم بودند.

بحث

میزان آلودگی مزارع در مناطق گرمسیر در مقایسه با مناطق سردسیر، حتی در مناطقی که یک رقم کشت شده بود، ناچیز و بیشترین آلودگی مربوط به مزارع مناطق سردسیر سپیدان، سعادت‌شهر، یاسوج و مهارلو بود.

بر پایهٔ نتایج این پژوهش، جدایه‌های *Pss* جدا شده از گندم و جو و علف‌های هرز در چهار گروه قرار می‌گیرند، که به استثنای گروه B همگی روی گندم بیماری‌زا بودند، و جدایه‌های گروه D توانایی تولید لوان را نداشته ولی در ویژگی‌های دیگر مشابه بودند. اسمیت و هاتینگ (۲٤) نیز *Pss* را به چهار گروه تقسیم کردند، که شبیه نتایج پژوهش حاضر است. نقوش الکتروفورزی *Pss* جدا شده از بادام، در مقایسه با گندم، علف‌های هرز و نیشکر، هم در باندهای اصلی و هم در باندهای فرعی متفاوت بود. این نتایج با گزارش‌های پژوهندگان دیگر هم‌خوانی دارد (۲۱ و ۲٤). نقوش الکتروفورزی *Pss* جدا شده از گندم و علف‌های هرز با هم شباهت‌های کلی داشتند، ولی بین آنها تفاوت‌هایی هم در باندهای اصلی و هم در باندهای فرعی دیده شد، که با نتایج به دست آمده از پژوهش‌های دیگر تا حدودی متفاوت است (۲۱ و ۲٤).

نتایج مقاومت ارقام مورد بررسی نشان می‌دهد که رقم فلات، C-73-5، Caspard، Tr80، اروند موتانت، M-73-18، اروند، اترک، Fr316، سرخ تخم و نیک نژاد مصون و مقاوم، و بقیه ارقام نیمه مقاوم، نیمه حساس و حساس می‌باشند، به طوری که می‌توان گفت اغلب ارقام نسبت به این باکتری از خود حساسیت نشان داده‌اند. اوتا (۱۸) معتقد است گندم‌های بهاره اغلب حساسیت کمتری نسبت به این باکتری دارند، که تا حدودی با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد.

یکی از مطمئن‌ترین راه‌های کاهش بیماری ناشی از این باکتری تولید ارقام مقاوم است. بنابراین، باید در برنامه اصلاح گندم به این امر توجه کافی کرد، و در مناطقی که آلودگی زیاد است از کاشت ارقام حساسی مانند تجن خودداری کرد.

باکتری *Pss* می‌تواند روی علف‌های هرز یکساله همچون دم روباهی، ماشک، یولاف وحشی و جو موشی به حالت اپی‌فیت زندگی کند، که در برخی از گزارش‌ها به آنها اشاره شده است (۱۲ و ۱۳). هم‌چنین، قادر است روی علف هرز دائمی مانند مرغ (*Cynodon dactylon*) به صورت اپی‌فیت زندگی کند، که در چندین منطقه از جمله سعادت‌شهر و مرودشت جداسازی شد و بیماری‌زایی آن به اثبات رسید. این نخستین گزارش در مورد مرغ به عنوان میزبان این باکتری در ایران است. بنابراین، باید مبارزه با علف‌های هرزی مانند مرغ در مدیریت کنترل این باکتری مد نظر قرار گیرد.

جدایه‌های به دست آمده از بذور ارقام تجن، کراس آزادی و قدس روی محیط کشت‌های KBC و KB، بر اساس آزمون‌های LOPAT و بیماری‌زایی آنها به عنوان باکتری *Pss* شناسایی گردیدند. بدین ترتیب این باکتری در گندم ممکن است بذرزاد باشد.

در روش شست‌شوی سطحی (Liquid assay)، *Pss* روی هیچ کدام از دو محیط کشت KBC و KB جداسازی نگردید. این نتیجه می‌تواند مؤید آن باشد که باکتری *Pss* به صورت اندوفیت درون بذور گندم به سر می‌برد. بازلور رشید (٦) نیز گزارش داد که به احتمال زیاد این باکتری در بذر به صورت اندوفیت زندگی می‌کند.

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1381.6.4.14.7]

در روش‌های مورد بررسی برای تعیین میزان بذرزاد بودن باکتری، از بوته‌های مایه‌زنی شده ارقام تجن، کراس آزادی در گلخانه، و رقم قدس که از مزارع کشاورزان جمع‌آوری شده بود، استفاده شد. بیشترین آلودگی بذری روی محیط کشت KBC در روش مستقیم (Direct planting)، و کمترین آلودگی بذری روی رقم قدس که از مزارع کشاورزان جمع‌آوری شده بود، روی محیط کشت KB به دست آمد. دامنه بذرزاد بودن این باکتری، با توجه به شمار بذور و روش‌های استفاده شده در تعیین میزان بذرزاد بودن، ۰/۵–۶/۵ درصد برآورد گردید. در حالی که در گزارش‌های دیگر میزان بذرزاد بودن این باکتری تا ۱۴ درصد نیز ذکر شده است، که این می‌تواند به دلیل حساسیت ارقام و شرایط آب و هوایی باشد (۱۶).

سپاسگزاری

نگارندگان از شورای پژوهشی دانشگاه شیراز برای تأمین هزینه‌های این پژوهش در طرح شماره ۶۱۵–۱۰۴۲–AG–۷۶ صمیمانه قدردانی می‌نمایند.

منابع مورد استفاده

۱. افیونیان، م. و ن. صحراگرد. ۱۳۷۴. بروز بلایت برگی گندم در شهرکرد. خلاصه مقالات دوازدهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران، آموزشکده کشاورزی کرج.

۲. رحیمیان، ح. ۱۳۶۷. وقوع بیماری بلایت باکتریایی گندم در کرمان. خلاصه مقالات نهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.

۳. رحیمیان، ح. ۱۳۷۰. لکه برگی باکتریایی شمعدانی در استان‌های مازندران و سمنان. بیماری‌های گیاهی ۲۷: ۱–۱۲.

۴. صحراگرد، ن.، ض. بنی‌هاشمی و س. م. تقوی. ۱۳۷۷. گزارش بلایت باکتریایی گندم در استان فارس. بیماری‌های گیاهی ۳۴: ۱۲۱.

۵. مرکز مطالعات و برنامه‌ریزی اقتصاد کشاورزی. ۱۳۷۲. گندم از تولید تا مصرف، پیشنهاد الگویی برای تحقیق. اقتصاد کشاورزی و توسعه ۳: ۸۴–۹۲.

6. Bazlur Rashid, A. Q. M. 1995. Detection of seed-borne *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* in wheat. Plant Varieties and Seeds 8: 47-54.
7. Dunn, M. J. 1993. Gel Electrophoresis Proteins. Bios Scientific Publ. Limited, London.
8. EL-Sadek, S. M. A., M. R. Abdel-Latif, T. I. Abdel-Gawad and N. A. Hussein. 1992. Bacterial leaf blight disease of wheat in Egypt. J. Microbiol. 27: 177-196.
9. Fahy, P. C. and A. C. Hayward. 1983. Media and methods for isolation and diagnostic test. PP. 337-378. *In*: P. C. Fahy and G. J. Persley (Eds.), Plant Bacterial Diseases: A Diagnostic Guide. Academic Press, Sydney, Australia.
10. Fahy, P. C. and C. J. Persley. 1983. Plant Bacterial Diseases: A Diagnostic Guide. Academic Press, Sydney, Australia.
11. FAO. 1995. On Year Book 1994. Vol. 48.6869.
12. Fryda, S. J. and J. D. Otta. 1978. Epiphytic movement and survival of *Pseudomonas syringae* on spring wheat. Phytopathol. 68: 1064-1067.
13. Gardan, L. S., C. Bollet and G. Hunault. 1991. Phenotypic hetergeneity of *Pseudomonas syringae* Van Hall. Res. Microbiol. 142: 995-1003.
14. Lelliot, R. A., E. Billing and A. C. Hayward. 1966. A determinative scheme for the fluorescent plant *Pseudomonas*. J. Appl. Bacteriol. 29: 470-489.

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1381.6.4.14.7]

15. Lindow, S. E. 1983. The role of bacterial ice nucleation in frost injury to plants. An. Rev. Phytopathol. 21: 363-384.
16. Mohan, S. K. and N. W. Schaad. 1987. An improved agar planting assay for detecting *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* and *Pseudomanas syringae* pv. *phaseolicola* in contaminated bean. Phytopathol. 77: 1390-1395.
17. Otta, J. D. 1972. Wheat leaf necrosis incited by *Pseudomonas syringae*. Phytopathol. 62: 1110 (Abstr.)
18. Otta, J. D. 1974. *Pseudomonas syringae* incites a leaf necrosis on spring and winter wheats in South Dakota. Plant Dis. Rep. 58: 1061-1064.
19. Otta, J. D. 1977. Occurrence and characteristics of isolate of *Pseudomonas syringae* on winter wheat. Phytopathol. 67: 22-26.
20. Peters, R. A., R. C. Timian and D. Wesenberg. 1983. A bacterial kernel spot of barley caused by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. Plant Dis. 67: 435-438.
21. Rahimian, H. 1995. The occurrence of bacterial red of sugarcane caused by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* in Iran. J. Phytopathol. 143: 321-324.
22. Schaad, N. W. 1982. Detection of seed borne bacterial plant pathogens. Plant Dis. 66: 885-890.
23. Schaad, N. W. 1988. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. Am. Phytopathol. Soc., St. Paul, MN, USA.
24. Smith, J. and M. J. Hattingh. 1991. Fluorescent *Pseudomonas* associated with disease of wheat in South Africa. Phytopathol. 133: 36-48.
25. Vassilev, V., K. Kolev, M. Zahaleva and V. Serov. 1995. Resistance of aegilops, maize and wheat genotypes to *Pseudomonas syringae* pathovars *atrofaciens* and *syringae*. Agronomie 15: 25-29.
26. Zeigler, R. S., G. Aricapa and E. Hoyos. 1987. Distribution of fluorescent *Pseudomonas* spp. causing grain and sheath discolouration in Latin America. Plant Dis. 71: 890-900.

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1381.6.4.14.7]