علوم و تحقیقات بذر ایران
سال نهم/ شماره چهارم/ ۱۴۰۱ (۴۰ - ۳۱)
مقاله پژوهشی
DOI: 10.22124/jms.2023.6169

نوسان جمعیت باکتری *Xanthomonas translucens* در بذر گندم و اثر آن بر برخی خصوصیات کیفی بذر و میزان ظهور بیماری در نسل بعد

کبری مسلم‌خانی[۱*]، بیتا اسکویی[۲]، سامان شیدائی[۳]، سعید حاجیلوئی[۴]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۷/۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۹/۲۸

چکیده

آلودگی بذور به باکتری بیمارگر *Xanthomonas translucens*، نقش مهمی در شروع و استقرار بیماری نواری باکتریایی غلات دارد که در صورت وجود شرایط محیطی مساعد می‌تواند باعث طغیان بیماری شود. با توجه به آن‌که جمعیت این باکتری بیماری‌زا با گذشت زمان در بذر با نوسان همراه است، این پژوهش به بررسی اثر تغییرات جمعیت باکتری پاتوژن مستقر در بذر بر استقرار بیماری در نسل بعد و نیز تاثیر آن روی برخی خصوصیات کیفی بذر پرداخته است. نتایج این تحقیق نشان داد بذرهای برداشت‌شده از مزارع بذری آلوده که علایم بیماری در این مزارع تا حد برگ‌های پرچم پیشروی داشته است دارای جمعیت باکتری از حداقل ۱۰^{۴} تا حداکثر ۴×۱۰^{۵} CFU/gr در زمان برداشت است که ده ماه پس از آن جمعیت باکتری به ۱۰^{۲} تا حداکثر ۴×۱۰^{۴} CFU/gr کاهش یافت و ۲۴ ماه پس از زمان برداشت، باکتری بیمارگر از بذرها (به استثنای یک نمونه) جداسازی نشد. با وجود آلودگی بالاتر از حد آستانه در بذرهای مورد ارزیابی (بالاتر از ۱۰^{۳} CFU/gr)، ظهور بیماری در مزارع آزمایشی از صفر تا حداکثر یک درصد اتفاق افتاد. اگرچه این نرخ انتقال اندک است اما همین تعداد بوته بیمار در شرایط محیطی مساعد می‌تواند پیش زمینه بروز یک همه‌گیری باشد. همچنین جمعیت‌های ردیابی‌شده باکتری در زمان برداشت بذر و حتی با گذشت زمان انبارداری اثرات معنی‌داری در تغییرات جوانه‌زنی و ظهور گیاهچه‌های طبیعی نداشته است اگرچه در برخی ویژگی‌های مرتبط با رشد طولی اثرات معنی‌دار مشخص شد که ضرورت دارد در تحقیقات آتی تاثیر باکتری *X. translucens* در تغییرات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی بذر مورد بررسی دقیق‌تر قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: بذر، گندم، کیفیت، نواری باکتریایی

۱- دانشیار پژوهش، مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران. moslemkhany@yahoo.com
۲- استادیار پژوهش، مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران. b_oskouei@yahoo.com
۳- استادیار پژوهش، مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران. saman_sheidaee@yahoo.com
۴- مربی مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران. hajiloee@yahoo.com
*نویسنده مسئول: moslemkhany@yahoo.com

مقدمه

بیماری نواری باکتریایی با عامل *Xanthomonas translucens* در اکثر مناطق دنیا که تحت کشت گندم یا جو هستند، به‌عنوان تهدیدی در ایجاد خسارت و کاهش محصول محسوب می‌شود (Duveiller, 1990). به‌دلیل ماهیت و تعاملات پیچیده این باکتری با میزبانان تاکنون انواع روش‌های کنترلی زراعی نظیر تناوب و نیز روش‌های شیمیایی در کنترل بیماری موفق عمل نکرده‌اند (Sapkota *et al.*, 2020). بذر به‌عنوان مهم‌ترین منبع آلودگی بیماری نواری باکتریایی محسوب می‌شود (Rashid *et al.*, 2013). مدت زمان بقاء باکتری روی بذر و احتمال انتقال آن به گیاهچه به‌شدت وابسته به شرایط انبارمانی و طول دوره انبارداری و حساسیت ژنوتیپ‌ها دارد (Forster and Schaad, 1990; Milus and Mirlohi, 1995). در شرایط مساعد محیطی در گیاهان حاصل از بذوری که حاوی حداقل CFU/gr ۱۰۰۰ باکتری بیمارگر در بذر باشد، علایم بیماری نواری باکتریایی مشاهده می‌شود (Duveiller *et al.*, 1997). در بذور آلوده‌شده به باکتری *X. translucens* با غلظت‌های CFU/gr $۱/۳\times۱۰^{۷}$ و $۸/۷\times۱۰^{۵}$ پس از گذشت شش ماه انبارداری به‌ترتیب حدود ۹۳ و ۷۹ درصد از جمعیت باکتری از بین می‌رود و قابل بازیابی نمی‌باشند و پس از گذشت سه سال، ۹۹/۵ درصد از جمعیت باکتری در بذر از بین رفته است. وقوع این بیماری از سال ۱۳۶۶ برای اولین بار از ایران در استان کرمان گزارش شد و بیماری به‌صورت افزایشی در سال‌های بعد در برخی مناطق ایران شیوع و گسترش یافته است (Alizadeh *et al.*, 1995). این بیماری از سال ۱۳۹۰ به بعد در برخی مناطق کشور به‌ویژه در مناطق غربی و مرکزی نظیر استان‌های کرمانشاه، همدان، کردستان، فارس و کرمان همه‌گیر شده است (Habibian *et al.*, 2021). در حال حاضر راهکارهای موثر کنترل شیوع بیماری، استفاده از بذر سالم و گواهی‌شده است و اهمیت این موضوع باعث توسعه روش‌های مختلف تشخیصی در بذر از جمله محیطهای کشت اختصاصی، ارزیابی گیاهچه و روش‌های مبتنی بر تشخیص اسید نوکلئیک شده است (Langlois *et al.*, 2017). با توجه به اهمیت بذرزادبودن این باکتری تحقیق حاضر به بررسی ماندگاری باکتری *X. translucens* در بذر ارقام حساس گندم و تاثیرات آن بر برخی خصوصیات کیفی بذر می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

ایزوله‌های باکتری و مواد گیاهی

ایزوله‌های باکتری‌های استاندارد از گروه گیاهپزشکی دانشگاه ولی عصر رفسنجان و مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال دریافت شد. در سال ۱۳۹۷ نمونه‌های بذری از مزارع ارقام حساس (پیشگام و میهن) در استان‌های همدان، فارس، زنجان و لرستان که علائم بیماری با شدت بالا را نشان می‌دادند. بر اساس دستورالعمل نمونه‌برداری انجمن بین‌المللی آزمون بذر جمع‌آوری شد. همچنین از مناطق غیر آلوده و مزارع سالم آذربایجان شرقی و زنجان نیز نمونه‌های از ارقام مورد اشاره به‌عنوان کنترل منفی برداشت شد.

بررسی تغییرات جمعیت باکتری *X. translucens* در بذر طی سه سال متوالی

جمعیت باکتری روی بذور نمونه‌برداری‌شده در سال ۱۳۹۷، طی سه سال متوالی انبارداری از طریق کشت و آزمون‌های تشخیصی مورد بررسی قرار گرفت. برای استخراج باکتری از بذر دو و نیم برابر وزن بذر برداشت‌شده بافر نمکی حاوی توئین ۲۰ (۰/۰۲ درصد حجمی/حجمی) به بذرها اضافه شد. سپس نمونه‌ها به‌مدت یک ساعت در بافر شیک و نگهداری شدند. چهار سری رقت از هر عصاره تهیه و ۱۰۰ میکرولیتر از هر رقت در محیط کشت نوترینت آگار سوکروز (NAS) و عصاره مخمر سوکروز آگار (YESA) با استفاده از میله شیشه‌ای پخش‌کننده کشت شد. همزمان سری رقت نمونه‌های مرجع باکتری *X. translucens* (ایزوله ۴۲) که از دانشگاه ولی عصر رفسنجان دریافت شده بود، نیز کشت گردید. پتری‌ها در دمای ۲۸ درجه سلسیوس به‌مدت یک هفته نگهداری و سپس جمعیت باکتری‌های مشابه با ریخت‌شناسی باکتری استاندارد با فرمول ($۱۰^{+۱}$ ×۱۰×تعدادکلونی) برای هر گرم بذر ارزیابی شدند. کلنی‌های مورد نظر خالص‌سازی و برای آزمون‌های تشخیصی بعدی در محیط عصاره مخمر دکستروز آگار (YDC) نگهداری شدند.

آزمون فوق حساسیت و بیماری‌زایی

برای آزمون فوق حساسیت سوسپانسیون کدر کشت ۴۸ ساعته باکتری با استفاده از سرنگ به برگ توتون تزریق شد.

همچنین آزمون بیماریزایی روی دو رقم حساس گندم پیشگام و میهن با تزریق سوسپانسیون باکتری (به غلظت 10^8 CFU/ml) به برگ و بررسی توسعه علایم آب‌سوختگی انجام شد.

استخراج DNA و آزمون PCR

برای استخراج DNA باکتری ابتدا یک لوپ از کشت باکتری مورد نظر در محیط YDC در یک میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر استریل به‌صورت سوسپانسیونی با غلظت 10^7 CFU/ml (OD 600nm=0.05) تهیه شد. سوسپانسیون مذکور به‌مدت پنج دقیقه در ۹۵ درجه سلسیوس جوشانده و تا زمان استفاده در ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد. برای ردیابی *X. translucens* از آغازگرهای اختصاصی T1 و T2 به‌ترتیب با توالی 5' CCGCCATAGGGCGGAGCACCCCGAT 3' و 5' GCAGGTGCGACGTTTGCAGAGGGATCT TCTGCAAA 3' با هدف تکثیر ناحیه 16S-23S rRNA استفاده شد (Maes *et al*., 1996).

آزمون PCR در واکنش ۲۵ میکرولیتری شامل ۱۲/۵ میکرولیتر بافر (Ampliqon, Taq 2x Master Mix Red denmark)، ۰/۴ میکرومولار از هر کدام از جفت آغازگرهای T1 و T2 (یک میکرولیتر از استوک ۱۰ میکرومولار)، چهار میکرو لیتر DNA و ۶/۵ میکرو لیتر آب در هر واکنش مورد استفاده قرار گرفت. سیکل دمایی به‌صورت یک سیکل در ۹۴ درجه سلسیوس به‌مدت سه دقیقه، ۳۵ سیکل شامل یک دقیقه در ۹۴ درجه و دو دقیقه در ۷۲ درجه سلسیوس و نهایتاً یک سیکل در ۷۲ درجه سلسیوس به‌مدت ۱۰ دقیقه در نظر گرفته شد. ۱۰ میکرولیتر از محصول PCR بر روی ژل آگاروز یک و نیم درصد حاوی ژل رد مورد بررسی قرار گرفت. برای تخمین اندازه قطعه تکثیرشده از نشانگر bp ۱۰۰ استفاده شد. محصول PCR در نمونه‌های کنترل مثبت و آلوده قطعه‌ای به‌اندازه bp ۱۳۹ است.

ارزیابی ظهور بیماری در مزرعه

نمونه های مورد بررسی طی سال‌های ۹۸ و ۹۹ در مزرعه تحقیقاتی مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال جهت بررسی میزان ظهور بیماری کشت شدند. هر نمونه با تراکم ۴۰۰ بذر در متر مربع در کرتی به مساحت شش متر مربع کشت شد و سپس درصد و شدت آلودگی در مزرعه طی مرحله گلدهی طبق روش دوولیر و همکاران (Duveiller *et al*., 1997) بررسی و ثبت شد.

آنالیز تجزیه کیفی بذر

تعداد ۳۰۰ بذر با سه تکرار ۱۰۰ بذری درون ظرف‌های پلاستیکی در بستر بین کاغذ جوانه‌زنی، کشت گردیدند. ظرف‌های کشت‌شده به‌مدت ۸ روز درون اتاق رشد در شرایط استاندارد انجمن بین‌المللی آزمون‌های بذر (دمای ثابت ۲۰ درجه سلسیوس و روشنایی ۱۲۵۰ لوکس) قرار داده شدند (Anonymous, 2022). به‌طور روزانه ظرف-های کشت‌شده مورد بازدید قرار گرفت و تعداد بذرهای جوانه‌زده یادداشت شد. در پایان دوره اجرای این آزمون درصدگیاهچه‌های عادی تعیین شد (Anonymous, 2018).

همچنین، صفات طول گیاهچه، ساقه‌چه و ریشه‌چه و نیز وزن خشک گیاهچه، ساقه‌چه و ریشه‌چه با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شدند. جهت اندازه‌گیری وزن خشک گیاهچه، ساقه‌چه و ریشه‌چه از آون ۷۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۴۸ ساعت استفاده شد. شاخص‌های بنیه گیاهچه به‌صورت زیر محاسبه شدند:

شاخص بنیه وزنی= وزن خشک گیاهچه×درصد جوانه‌زنی

شاخص بنیه طولی= طول گیاهچه×درصد جوانه‌زنی

آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار انجام گرفت.

نتایج و بحث

علایم بیماری در مزارع مورد ارزیابی به‌صورت لکه‌های نواری و کشیده به‌رنگ قهوه‌ای و شفاف مشاهده شد (شکل ۱). نتایج ارزیابی‌های آزمایشگاهی نشان داد تمام بذرهای مزارع آلوده حامل باکتری عامل بیماری بوده‌اند درحالی‌که از نمونه‌های مزارع سالم (بدون علایم بیماری)، باکتری عامل بیماری‌زا جداسازی نشد. ایزوله‌های جداسازی‌شده از نمونه‌های آلوده طبق جدول یک در آزمون فوق حساسیت و آزمون بیماری‌زایی مثبت ارزیابی شدند و با استفاده از پرایمرهای تخصصی، قطعه bp ۱۳۹ تکثیر شد، این قطعه در کنترل منفی مشاهده نشد (جدول ۱).

شکل ۱- علایم بیماری نواری باکتریایی گندم به‌صورت لکه‌های کشیده قهوه‌ای شفاف در برگ‌های پرچم (A) و خروج اوز باکتریایی از برگ‌های آلوده (B)؛ نمایی از کرت‌های آزمایشی برای بررسی ظهور بیماری در نسل دوم (C) و علائم بیماری در برخی بوته‌های نسل دوم (D)

Figure 1. Symptoms of bacterial leaf streak disease appear as brown longitudinal and translucent stripes on the flag leaves of wheat (A) appearance of bacterial ooze from the infected leaves (B); View of experimental plots to show the emergence of disease in the second generation (C) and the symptoms of the disease in some plants of the second generation (D)

جمعیت مختلفی از باکتری پاتوژن روی بذر در تمام نمونه‌های آلوده پس از برداشت ردیابی شد. این در حالی است که در شرایط انبارمانی مناسب با گذشت زمان، روند کاهش جمعیت باکتری محرز گردید، به‌طوری‌که جمعیت باکتری در بذر بعد از گذشت حدود ده ماه در اکثر نمونه‌ها به نصف کاهش یافت و در تمام نمونه‌ها (به استثنای یک نمونه)، باکتری پس از گذشت حدود ۲۲ ماه با استفاده از روش کشت، قابل ردیابی نبود (جدول ۱). ارزیابی جمعیت باکتری در بذر تقریباً همیشه بر پایه کشت و شمارش روی محیط انجام شده است و به نوعی ریخت‌شناسی و رنگ کلنی‌ها اساس انتخاب بوده است. جمعیت باکتری *X. translucens* ردیابی‌شده روی بذر به‌صورت اپیفیت در تمام نمونه‌های آلوده پس از برداشت در رنج 10^4-10^5 CFU/gr بذر تعیین شد. بر اساس نتایج سایر تحقیقات، جمعیت باکتری‌های مختلف بیمارگر که به‌صورت اندوفیت در بذر مستقر هستند. معمولاً در دامنه 10^1-10^2 CFU/gr در کم‌ترین حالت تا 10^6-10^8 CFU/gr مشاهده شد و این دامنه برای باکتری‌های اپیفیت از 10^4 CFU/gr تا 10^8 متغیر.

بذرهای آلوده طی دو سال متوالی در مزرعه تحقیقاتی واقع در استان البرز کشت شدند که حداکثر ظهور بیماری در کرت‌های مورد ارزیابی یک درصد بود و در برخی کرت‌ها هیچ گونه علائمی از بروز بیماری مشاهده نشد (جدول ۱). احتمال انتقال بیماری از بذر به گیاهچه به عوامل بسیار متعددی مرتبط است از جمله شرایط محیطی، طول دوره انبارداری، آلودگی خاک، جمعیت بیمارگر در بذر و حساسیت رقم است. نتایج حاصل از پژوهش‌های سایر محققان نشان داد که حداقل جمعیت باکتری *X. translucens* در هر گرم بذر که بتواند در شرایط مساعد ایجاد بیماری نماید 10^3 CFU/gr است (Duveiller *et al.*, 1997; Milus and Mirlohi, 1995; Sapkota *et al.*, 2020).

جدول ۱-تغییرات جمعیت باکتری *Xanthomonas translucens* در بذر گندم با گذشت زمان انبارداری و درصد ظهور بیماری در نسل بعد

Table 1. Population fluctuations of *Xanthomonas translucens* in seeds during storage time and the incidence of disease in the next generation

ایزوله Isolate	رقم Cultivar	مکان مزرعه Field position	نتایج آزمون‌های، فوق حساسیت و PCR Results of HR and PCR	جمعیت باکتری در بذر در زمان برداشت Bacterial population after harvest	جمعیت باکتری در بذر ۱۰ ماه پس از برداشت Bacterial population 10 month after harvest	جمعیت باکتری در بذر ۲۴ ماه پس از برداشت Bacterial population 24 month after harvest	درصد گیاهان آلوده در مزرعه نسل بعد Percentage of infected plants on the next generation
				CFU/gram seed			
HN1	Pishgam	Hamedan	+	10^5	2×10^3	_	0.5
H3	Pishgam	Hamedan	+	4×10^5	_	_	0
F2	Pishgam	Fars	+	6×10^4	4×10^4	10	0.25
F6	Pishgam	Fars	+	2×10^4	5×10^3	_	0
L4	Pishgam	Lorestan	+	3×10^4	2×10^3	_	1
LA5	Pishgam	Lorestan	+	10^4	3×10^3	_	0.25
LB7	Pishgam	Lorestan	+	10^4	3×10^3	_	0.25
Z12	Pishgam	Zanjan	+	10^4	2×10^2	_	0.25
NPA9	Pishgam	Azarbayjan sharghi	ND	_	_	_	0
NMA11	Mihan	Azarbayjan sharghi	ND	_	_	_	0
HM8	Mihan	Hamedan	+	4×10^5	10^2	_	0.25
ZM13	Mihan	Zanjan	ND	_	_	_	0

ND: Not Determined, +:Positive, -:Negative

حداکثر آلودگی ظاهرشده در مزرعه از کشت بذور آلوده در تحقیقات پیشین کم‌تر از سه درصد مشخص شده است (Tubajika *et al.*, 1998) که با نتایج تحقیق حاضر طی ارزیابی در دو فصل زراعی انطباق داشت. این گروه از محققین نشان دادند که شدت ظهور بیماری در برگ‌های پرچم گیاهان مادری رابطه مستقیمی با میزان آلودگی بذر حاصله و انتقال آن به گیاهان نسل بعد دارد. علائم بیماری در کرت‌هایی که آلودگی نشان داد به‌صورت لکه‌ها یا نوارهای ریز، نیمه‌شفاف و آب‌سوخته که سپس به لکه‌های کشیده قهوه‌ای شفاف تبدیل‌می‌شدند، ظاهر شد. علایم اغلب وسط برگ، جایی که شبنم صبحگاهی مدت بیش‌تری می‌ماند، دیده شد. لکه‌های نواری روی سطح برگ به‌صورت زخم‌های آب‌سوخته ظاهر شدند که در صورت وجود رطوبت بالا این لکه‌های نواری به‌سرعت به‌صورت موازی با رگبرگ‌ها توسعه می‌یابند و منجر به کلروز و نهایتاً نکروز برگ‌ها می‌شوند.

آزمون‌های تجزیه کیفی جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس داده‌های آزمون جوانه‌زنی استاندارد در مقابل آلودگی، رقم و مدت انبارداری نشان داد که اثر آلودگی و مدت زمان نگهداری بذر بر تعدادی از ویژگی‌های جوانه‌زنی بذر از جمله شاخص طولی بنیه گیاهچه، طول گیاهچه، طول ریشه‌چه و وزن خشک ساقه‌چه معنی‌دار بوده درحالی‌که در اثر رقم، تفاوت معنی‌داری در هیچ یک از ویژگی‌های مورد اشاره در جدول ۲ مشاهده نشد (جدول ۲).

میزان جوانه‌زنی و درصد گیاهچه‌های طبیعی دو فاکتور بسیار مهم در ویژگی‌های کیفیت بذر به‌شمار می‌روند. نتایج این بررسی‌ها نشان داد که آلودگی باکتری *X. translucens* تاثیر معنی‌داری در این دو ویژگی حتی پس از گذشت یک سال از انبارداری ندارد. اگرچه سایر تحقیقات نشان داده است که این کیفیت می‌تواند تحت تاثیر عوامل مختلفی از جمله فعالیت بیمارگرها تغییر کند و منجر به کاهش کیفیت بذر و به تبع آن افت کمیت محصول گردد (Kulik, 2020). توباجیکا و همکاران (Tubajika *et al.*, 1998) کاهش معنی‌دار جوانه‌زنی در اثر آلودگی دو رقم گندم به باکتری *X. translucens* را گزارش کردند. البته تحقیقات این گروه روی بذور گندمی بوده که از طریق تزریق جمیت بسیار زیاد باکتری (۱۰۸ CFU/ml) با روش نفوذ در خلاء (Vacuum infiltration) آلوده‌سازی مصنوعی شده بودند و همچنین آن‌ها اثر منفی بر قوه نامیه را بسیار بسته به نوع رقم و به‌ویژه ارقامی که علائم سوختگی سیاه پوشینه (Black chaff) را ایجاد می‌کردند، دانستند و با وجود این موارد کاهش قوه نامیه در گیاه سالم و آلوده به‌ترتیب از ۹۸ به ۹۴ درصد و در رقم حساس‌تر از ۹۹ به ۹۰ درصد گزارش گردید. به‌نظر می‌رسد در نتایج تحقیق حاضر به‌دلیل بررسی اثر آلودگی طبیعی مستقر در بذر و وجود جمعیت کم‌تر باکتری (در حد نصف) در شرایط آلودگی طبیعی اثر منفی معنی‌دار بر جوانه‌زنی بذر مشاهده نشد. البته برخی شاخص‌های مرتبط با طول گیاهچه نظیر شاخص طولی بنیه گیاهچه، طول گیاهچه، طول ریشه تحت تاثیر این آلودگی تغییرات معنی‌داری نشان داده‌اند. حد آستانه آلودگی بذر به باکتری *Xanthomonas translucens* ۱۰۳ CFU/gr تعیین شده است (Sapkota *et al.*, 2020). در واقع حد آستانه آلودگی بذر که بر اساس رابطه بین سطح آلودگی بذر و میزان نرخ ظهور بیماری در مزرعه تعیین می‌شود اشاره به میزان جمعیت باکتری دارد که رشد و توسعه گیاه را به‌صورت معنی‌داری کاهش می‌دهد.

گزارشات دیگری در مورد اثر باکتری‌های *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* و *Burkholderia glumae* و نیز برخی باکتری‌های بیماری‌زا از جنس Xanthomonas، *Pseudomonas* و *Erwinia* (Niranjan *et al.*, 2007; Van Nghiep *et al.*, 2001). در کاهش معنی‌دار جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های حاصل از بذر برنج وجود دارد که حتی در برخی موارد آلودگی‌های درونی بذر منجر به عدم جوانه‌زنی شده است.

کاهش قوه نامیه در اثر تنش‌های زنده و غیر زنده می‌تواند به‌دلیل تغییر در فعالیت آنزیم‌هایی باشد که در جوانه‌زنی و رشد گیاهچه تأثیرگذار هستند (Chauhan *et al.*, 2011; Goodarzian *et al.*, 2014). باکتری‌های بیماری‌زا که به‌صورت سیستمیک از بذر به گیاهچه منتقل می‌شوند کیفیت فیزیولوژیک گیاه را تغییر می‌دهند (Barret *et al.*, 2016) و حتی تحت تنش و شرایط محیطی مناسب بیماری ممکن است جمعیت اندک باکتری پاتوژن نیز، قادر به کلنه نمودن مؤثر گیاه (Darrasse *et al.*, 2007) و کاهش ویژگی‌های کیفی و بنیه بذر شود.

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر آلودگی بذور گندم به باکتری *Xanthomonas translucens* بر شاخص‌های جوانه‌زنی

Table 2. Analysis of variance related to the effect of wheat seeds infection with *Xanthomonas translucens* on germination indices

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات (MS)						
		شاخص وزنی بنیه گیاهچه Seedling weight vigour index	شاخص طولی بنیه گیاهچه Seedling length vigour index	درصد گیاهچه طبیعی Normal seedling percentage	طول گیاهچه Seedling length	طول ساقه‌چه Shoot length	طول ریشه‌چه Root length	وزن خشک ساقه‌چه Shoot dry weight
آلودگی Infection (I)	1	0.476^{**}	7.56^{*}	0.0037^{ns}	6.406^{*}	0.464^{ns}	3.420^{*}	0.00000280^{*}
رقم Cultivar (C)	1	0.025^{ns}	8314^{ns}	0.0037^{ns}	0.081^{ns}	0.008^{ns}	0.144^{ns}	0.00000028^{ns}
مدت نگهداری Storage time (S)	1	0.516^{**}	1840997^{ns}	0.0037^{ns}	210.041^{**}	64.878^{**}	41.448^{**}	0.00001320^{**}
I×C	1	0.054^{ns}	569^{ns}	0.0048^{ns}	0.015^{ns}	0.088^{ns}	0.030^{ns}	0.00000088^{ns}
I×S	1	0.052^{ns}	157318^{**}	0.0037^{ns}	20.535^{**}	0.784^{ns}	13.290^{**}	0.00000280^{*}
C×S	1	0.002^{ns}	1618^{ns}	0.0073^{ns}	0.006^{ns}	0.126^{ns}	0.074^{ns}	0.00000014^{ns}
I×C×S	1	0.072^{*}	44815^{ns}	0.0008^{ns}	4.506^{ns}	1.892^{ns}	0.558^{ns}	0.00000204^{*}
خطا Error	16	0.016	1224	0.0046	1.203	0.431	0.507	0.00000046
درصد ضریب تغییرات CV%		10.04	5.98	4.95	5.69	7.19	7.02	10.13

ns ، * و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

ns, * and ** non-significant and significant at 1 and 5 percent level of probability

در مجموع نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که باکتری *X. translucens* به‌عنوان یک بیماری بذرزاد مهم در مزارع گندم ایران به‌شمار می‌رود. علیرغم خسارات این بیماری در سطح سبز مزرعه، نتایج ارزیابی کیفی بذر و شاخص‌های جوانه‌زنی و بنیه نمونه‌های بذری آلوده نشان داد این باکتری بیمارگر اثر مستقیمی در کاهش کیفیت بذر ندارد و با گذشت زمان جمعیت باکتری در بذر کاهش می‌یابد. همچنین نتایج ارزیابی‌های مزرعه نشان داد وجود جمعیت قابل قبول باکتری در بذر حتماً منجر به ظهور بیماری در مزرعه نمی‌گردد و عوامل محیطی دیگر نقش تعیین‌کننده‌ای در ظهور این بیماری دارد که نیازمند تحقیقات بیش‌تر در آینده است.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از مسئولین گروه گیاهپزشکی دانشگاه ولی عصر رفسنجان و مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال کرج تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

Alizadeh, A., Barrault, G., Sarrafi, A., Rahimian, H. and Albertini, L. 1995. Identification of bacterial leaf streak of cereals by their phenotypic characteristics and host range in Iran. European Journal of Plant Pathology, 101: 225-229. **(Journal)**

Anonymous, 2018. ISTA. Handbook on seeding evaluation.4th Edition. Zurich, Switzerland. **(Book)**

Anonymous, 2021. International rules for seed testing. International Seed Testing Association (ISTA). Zurich, Switzerland. **(Book)**

Barret, M., Guimbaud, J.F., Darrasse, A. and Jacques, M.A., 2016. Plant microbiota affects seed transmission of phytopathogenic microorganisms. Molecular plant pathology, 17:791. **(Journal)**

Chauhan, D.S., Deswal, D.P., Dahiya, O.S. and Punia, R.C. 2011. Change in storage enzymes activities in natural and accelerated aged seed of wheat (*Triticum aestivum*). Indian Journal of Agricultural Sciences, 81: 1037-1040. **(Journal)**

Darrasse, A., Bureau, C., Samson, R., Morris, C.E. and Jacques, M.A. 2007. Contamination of bean seeds by *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* associated with low bacterial densities in the phyllosphere under field and greenhouse conditions. European Journal of Plant pathology, 119:203-215. **(Journal)**

Duveiller, E., Bragard, C. and Maraite, H. 1997. Bacterial leaf streak and black chaff caused by *Xanthomonas translucens*. The Bacterial Diseases of Wheat. Concepts and Methods of Disease Management, 25-47. **(Journal)**

Forster, R.L. and Schaad, N.W. 1990. Longevity of *Xanthomonas campestris* pv. *translucens* in wheat seed under two storage conditions. In: Klement, A.Z. (ed.), Proceedings of the 7th International Conference of Plant Pathogenic Bacteria. Budapest, Hungary: Akadémiai Kiado. pp: 329–331. **(Conference)**

Goodarzian Ghahfarokhi, M., Ghasemi, E., Saeidi, M. and Heidari Kazafi, Z. 2014. Seed Reserve Utilization and Malondialdehyde Content of Two Wheat Cultivars. Journal of Stress Physiology and Biochemistry, 10: 15-23. **(Journal)**

Habibian, M., Alizadeh Aliabadi, A., Hayati, J. and Rahimian, H. 2021. Investigation of the phenotypic and genetic diversity of *Xanthomonas translucens* pathovars, the causal agents of bacterial leaf streak of wheat and barley in parts of Iran. Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture), 44: 33-50. (In Persian) **(Journal)**

Kulik, M.M. 2020. Seed quality and microorganisms. In Seed Quality (pp. 153-171). CRC Press. Duveiller, E., Bragard, C. and Maraite, H., 1997. Bacterial leaf streak and black chaff caused by *Xanthomonas translucens*. The Bacterial Diseases of Wheat. Concepts and Methods of Disease Management. 25-47. **(Book)**

Langlois, P.A., Snelling, J., Hamilton, J.P., Bragard, C., Koebnik, R., Verdier, V., Triplett, L.R., Blom, J., Tisserat, N.A. and Leach, J.E. 2017. Characterization of the *Xanthomonas translucens* complex using draft genomes, comparative genomics, phylogenetic analysis, and diagnostic LAMP assays. Phytopathology, 107: 519-527. **(Journal)**

Maes, M., Garbeva, P. and Kamoen, O. 1996. Recognition and detection in seed of the Xanthomonas pathogens that cause cereal leaf streak using rDNA spacer sequences and polymerase chain reaction. Phytopathology, 86: 63-69. **(Journal)**

Milus, E.A. and Mirlohi, A.F. 1995. Survival of *Xanthomonas campestris* pv. *translucens* between successive wheat crops in Arkansas. Plant Disease, 79: 263–265. **(Journal)**

Niranjan, C., Mishra, B.D. and Dhal, N.K. 2007. Effect of bacterial seed infection on rice seed germination. Journal of Mycopathological Research, 45: 269-271. **(Journal)**

Rashid, A., Sajahan, M., Inam-Ul-Haq, M., Shahid, M., Ehetisham-ul-Haq, M. and Waris, I.H. 2013. Distribution of black chaff disease of wheat caused by *Xanthomonas campestris* pv. *translucens* in different ecological zones of Pakistan and its management through plant extracts and bio-products. European Journal of Experimental Biology, 3: 261-266. **(Journal)**

Sapkota, S., Mergoum, M. and Liu, Z. 2020. The translucens group of *Xanthomonas translucens*: Complicated and important pathogens causing bacterial leaf streak on cereals. Molecular plant pathology, 21: 291-302. **(Journal)**

Tubajika, K.M., Tillman, B.L., Russin, J.S., Clark, C.A. and Harrison, S.A. 1998. Relationship between flag leaf symptoms caused by *Xanthomonas translucens* pv. *translucens* and subsequent seed transmission in wheat. Plant disease, 82: 1341-1344. **(Journal)**

Van Nghiep, H., Van Du, P. and Mathur, S.B. 2001. Effect of cleaning on seed health and seed germination of rice. Omonrice, 9: 138–9. **(Journal)**

Population fluctuations of *Xanthomonas translucens* in wheat seeds and its effect on some quality characteristics of seed and disease emergence in the next generation

Cobra Moslemkhani[1*], Bita Oskouei[2], Saman Sheidaei[3], Saeed Hajiloee[4]

Received: September 29, 2022 Accepted: December 19, 2022

Abstract

Infected seeds play considerable role in establishment of bacterial leaf streak disease caused by *Xanthomonas translucens* on cereal, which can onset disease outbreaks under favorable environmental conditions. The population of this pathogenic bacterium fluctuates over time in the seed. The present study investigated these changes and their effects on the disease establishment and seed quality. The bacterial population in the seeds harvested from the infected fields with progressed symptoms up to the flag leaves, had at least 10^4 to a maximum of 4×10^5 CFU/gr at harvest time. Ten months later the population was reduced to 10^2 to a maximum of 4×10^4CFU/gr and 24 months after harvest, the pathogen was not isolated from the seeds (except for one sample). The seed contamination evaluated in this study is higher than the seed contamination threshold (10^3CFU/gr) but disease transmission in the experimental field occurred from zero to a maximum of one percent. Although this rate of transmission is low, the same number of diseased plants in favorable environmental conditions can trigger an epidemic. Also, bacterial population on seed even after storage time did not have significant effects on germination and natural seedlings emergence, although on some characteristics related to longitudinal growth had significant effects. The effect of *X. translucens* on physiological and biochemical changes of seeds needs to be further investigated.

Keywords: Bacterial streak; Quality; Seed; Wheat

How to cite this article
Moslemkhani, C., Oskouei, B., Sheidaei, S. and Hajiloee, S. 2023. Population fluctuations of *Xanthomonas translucens* in wheat seeds and its effect on some quality characteristics of seed and disease emergence in the next generation. Iranian Journal of Seed Science and Research, 9(4): 31-40. (In Persian)**(Journal)**
DOI: 10.22124/jms 2023.6169

COPYRIGHTS
Copyrights for this article are retained by the author(s) with publishing rights granted to the Iranian Journal of Seed Science and Research
The content of this article is distributed under Iranian Journal of Seed Science and Research open access policy and the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY4.0) License. For more information, please visit http://jms.guilan.ac.ir/

1. Seed and Plant Certification and Registration Institute. Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO). Tehran, Iran. moslemkhany@yahoo.com
2. Seed and Plant Certification and Registration Institute. Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO). Tehran, Iran. b_oskouei@yahoo.com
3. Seed and Plant Certification and Registration Institute. Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO). Tehran, Iran. saman_sheidaee@yahoo.com
4. Seed and Plant Certification and Registration Institute. Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO). Tehran, Iran. hajiloee@yahoo.com
*Corresponding author: moslemkhany@yahoo.com