معرفی و اهمیت بیماری‌های باکتریایی برنج در استان مازندران

مهدی رستمی[1*]، وحید خسروی[1] و مرتضی نصیری[1]

۱- اعضای هیئت علمی معاونت مؤسسه تحقیقات برنج کشور (آمل)

Mrostami522002@yahoo.com

چکیده

یکی از عوامل محدودکننده کشت و تولید برنج، بیماری‌های باکتریایی آن هستند که در شرایط مساعد باعث ایجاد خسارت می‌شوند. طی تحقیقات صورت گرفته در ارتباط با مطالعه بیماری-های باکتریایی برنج در استان مازندران از سال ۱۳۸۱ لغایت ۱۳۸۸، تعداد ۷ گونه از عوامل بیماری‌زای باکتریایی برنج در استان مازندران شناسایی شدند. گونه‌های *Dickeya chrysanthemi* و *Pectobacterium carotovorum* subsp *carotovorum* و *P. marginalis* به‌عنوان عوامل بیمارگر خاک‌زاد و گونه‌های *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* *Pseudomonas syringae* گونه‌ای شبیه به *P. fuscovaginae* و *Pantoea ananas* به عنوان عوامل بیمارگر بذرزاد برنج مطرح می‌باشند. این عوامل بیمارگر باکتریایی در خزانه و زمین اصلی و در نقاط مختلف برنج‌کاری و روی ارقام محلی و پرمحصول برنج پراکندگی دارند.

کلمات کلیدی: بیماری‌های باکتریایی، عوامل بیمارگر خاک‌زاد، برنج

مقدمه

یکی از عوامل اصلی محدود کننده کشت و تولید برنج بیماری‌های آن می‌باشد. از میان ۷۰ بیماری گزارش شده از روی این محصول ارزشمند، اغلب اهمیت اقتصادی کمی دارند. ولی چند بیماری از موانع اصلی کشت و تولید آن هستند که کمیت و کیفیت برنج را به مقدار قابل ملاحظه‌ای کاهش می‌دهند. د ر دنیا ۱۰ بیماری باکتریایی وجود دارد که تعدادی از آن‌ها قادرند خسارت‌های قابل توجهی را به محصول برنج وارد نمایند. بیماری سوختگی باکتریایی برگ[1] و پوسیدگی غلاف برگ پرچم[2] دو نمونه از مهم‌ترین عوامل باکتریایی می باشد که باعث ایجاد خسارت اقتصادی روی محصول برنج می‌شوند (میو و میسرا، ۱۹۹۴). در مناطق مختلف برنج کاری استان مازندران نیز بیماری‌های باکتریایی شایع می‌باشند. در مرحله گیاهچه‌ای و آبستنی گونه های مهمی از عوامل بیماری‌زای باکتریایی وجود دارند که در شرایط مساعد باعث ایجاد خسارت می‌شوند.

1 - Bacterial leaf blight
2 - Bacterial flag sheath rot

دو دسته از عوامل بیمارگر باکتریایی وجود دارند که تعدادی از آن‌ها خاک زاد و تعداد دیگری از آن‌ها بذرزاد می‌باشند. گونه های *Dickeya chrysanthemi* و *Pectobacterium carotovorum* subsp *carotovorum* به عنوان عوامل بیمارگر بومی خاک و گونه های *Acidovorax avenae* subsp. *avenae*، *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*، *Pseudomonas fuscovaginae* و *Pantoea ananas* به عنوان عوامل بیمار گر بذرزاد برنج مطرح می‌باشند. این عوامل باکتریایی قادرند در خزانه و زمین اصلی باعث ایجاد خسارت شوند.

بیماری لکه نواری باکتریایی برنج

گونه *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* انتشار جهانی داشته و در خزانه های برنج بیشتر نقاط دنیا وجود دارد(وبستر و گانل، ۱۹۹۲). عامل بیماری در شرایط مساعد خسارت قابل توجهی را روی گیاهچه ها ایجاد می‌نماید. کادوتا در ژاپن، وقوع این بیماری در سینی خزانه[1] را با فراوانی بسیار بالائی گزارش نمود که در مقایسه با دو بیماری پوسیدگی[2] و سوختگی[3] باکتریایی گیاهچه فراوانی و خسارت بیشتری داشته است (کادوتا، ۱۹۹۶). آلودگی شدید گیاهچه منجر به مرگ گیاهچه ها و سوختگی کامل آن‌ها می‌گردد. علائم بیماری در سینی نشاء به صورت خمیدگی و یا عصایی شدن گیاهچه[4] مشاهده شده و خسارت زیادی ایجاد می‌نماید. باکتری عامل بیماری بذرزاد بوده و دامنه میزبانی وسیعی روی گیاهان خانواده پوآسه دارد. شاکیا (۱۹۸۶) میزان آلودگی شلتوک برنج به باکتری عامل بیماری را بین ۱ تا ۷۵ درصد گزارش نمود. عامل بیماری به عنوان یکی از عوامل بیماری‌زای همراه با تغییر رنگ[5] خوشه نیز گزارش شده است(کادوتا، ۱۹۹۶ و کوتین و همکاران، ۱۹۹۶). در ایران این بیماری توسط رحیمیان (۱۹۸۶) در خزانه های شرق استان مازندران و روی ارقام سنگ طارم، آمل ۲، آمل ۳، و هراز مشاهده و خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی باکتری عامل بیماری تعیین گردید. بنا بر گزارش موجود، بیماری در مناطق مذکور به لحاظ اقتصادی اهمیت چندانی نداشته است.

بیماری پوسیدگی قهوه ای باکتریایی غلاف برنج

این بیماری در نواحی معتدله، گرم و سردسیر با بارندگی زیاد خسارت قابل توجهی را به محصول برنج وارد می‌کند. مهم‌ترین خسارتی که این بیماری ایجاد می‌کند به صورت پوسیدگی غلاف انتهایی، پرشدن ناقص دانه و عقیمی شلتوک است که در نتیجه کمیت و کیفیت برنج را کاهش می‌دهد (جانت، ۱۹۹۶ و روت و همکاران، ۱۹۸۹). عامل این بیماری *Pseudomonas fuscovaginae* گزارش

---

1 - Nursery box
2 - Seedling rot
3 - Seedling blight
4 - Bending symptom
5 - Grain discoloration

شده که درصد بذرزادی آن بیش از ۳۰ درصد در آمریکای لاتین گزارش شده است(زیگلر و همکاران، ۱۹۸۷). این باکتری از بذور تغییر رنگ یافته و سالم برنج جدا شده است. بیماری در بعضی از کشورهای جنوب شرقی آسیا اهمیت زیادی از لحاظ اقتصادی داشته و در درجه اول اهمیت قرار دارد. بیماری در درجه حرارت‌های زیر ۲۰ درجه سانتی‌گراد قادر است در خزانه‌ها باعث ایجاد پوسیدگی گیاهچه‌ها شود (کوتین و همکاران، ۲۰۰۱، زیگلر و الوارز، ۱۹۸۷ و وبستر و گانل، ۱۹۹۲). در شمال ایران گزارش قطعی در خصوص وجود این بیماری وجود ندارد ولی جدایه هایی شبیه ولی تا حدودی متفاوت با خصوصیات عامل این بیماری گزارش شده است (رستمی و همکاران، ۱۳۸۴).

بیماری پوسیدگی باکتریایی غلاف برنج

باکتری عامل بیماری *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* نام دارد که به فراوانی از بذر جداسازی شده ولی پتانسیل ایجاد اپیدمی پایینی دارد. این بیماری اولین بار از مجارستان گزارش شده است و در مقایسه با بیماری پوسیدگی قهوه ای غلاف برنج(*Pseudomonas fuscovaginae*)، پتانسیل ایجاد خسارت بالایی ندارد (میو و میسرا، ۱۹۹۴) پاتووارهای *striafaciens* و *atrofaciens* از گونه *Pseudomonas syringae* در ایران باعث ایجاد پوسیدگی غلاف برگ پرچم می‌شود(رستمی و همکاران، ۱۳۸۴ و صابری و همکاران، ۱۳۸۶). در استان گیلان نیز پاتوار *syringae* از خوشه های برنج جداسازی و شناسایی شد (آسمانی نژاد و همکاران، ۱۳۸۷).

بیماری بلایت باکتریایی برگ برنج

این بیماری یکی از بیماری‌های بسیار مهم باکتریایی برنج در کشور های آسیایی بوده و باعث ایجاد خسارت اقتصادی ۲۰ الی ۳۰ درصدی به محصول برنج می‌شود. باکتری عامل بیماری *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* نام دارد که از پارانشیم، جنین و اندوسپرم بذر نیز جدا می‌شود. درصد انتقال بذری آن در پاکستان تا ۱۵ درصد گزارش شده است. با این وجود، بذرزادی عامل این بیماری هنوز مورد بحث و اختلاف نظر است (بوتا و احمد، ۱۹۹۴). گزارش شده که باکتری عامل بیماری درون بذر بقاء نیافته و دوام چندانی در بذر ندارد(میو و میسرا، ۱۹۹۴). پتانسیل اپیدمی شدن آن نیز از طریق بذر بسیار ضعیف گزارش شده است. در استان گیلان، باکتری عامل بیماری سوختگی برگ برنج، از نشاء ها، گیاهان بالغ، خوشه‌ها و بذر حاصل از گیاهان با آلودگی طبیعی جداسازی و گزارش شد. همچنین انتقال باکتری *X. oryzae* pv. *oryzae* از طریق بذر برنج با استفاده از روش BIO- PCR به اثبات رسید (آسمانی نژاد و همکاران، ۱۳۸۷).

بیماری قهوه ای شدن خوشه های برنج

عامل این بیماری در گذشته *Erwinia herbicola* نام‌گذاری شده بود (آزگامی و همکاران، ۱۹۸۳)، تا اینکه پس از تغییراتی در طبقه بندی این دسته از باکتری‌ها به *Pantoea agglomerans*

تغییر نام یافت. عامل بیماری باعث تغییر رنگ و قهوه ای شدن خوشه های برنج می‌شود. میزان آلودگی خوشه‌ها به این باکتری بین ۲/۱ الی ۱۲/۶ درصد گزارش شده است (گوانلین، ۲۰۰۱). این بیماری در اکثر کشورهای برنج خیز دنیا وجود دارد. کوتر و همکاران (۲۰۰۴) عامل این بیماری را *Pantoea ananas*در استرالیا گزارش نمودند. علائم توصیف شده در مطالعه مذکور به صورت پوسیدگی ساقه پانیکول و تغییر رنگ خوشه‌ها گزارش شده است.

بیماری پوسیدگی طوقه و ساقه برنج

عامل این بیماری باکتری خاکزی به نام *Dickeya chrysanthemi* می‌باشد. این بیماری از ژاپن، هند، بنگلادش، کره و فیلیپین گزارش شده و در دنیا به عنوان یک بیماری کم اهمیت[1] تلقی می‌شود. بیماری بیشتر در خزانه‌ها اهمیت داشته و در مواردی باعث ایجاد خسارت در خزانه می‌شود. بیماری در زمین‌های باتلاقی و دارای بافت رسی سنگین بیشتر مشاهده می‌شود. همچنین انبوه بودن بوته‌ها در واحد سطح، غرقاب بودن دائم خزانه، مصرف بیش از اندازه کود نیتروژن، راکد بودن آب در خزانه(ماندابی) از عواملی هستند که باعث شیوع بیماری می‌شود. با این حال این بیماری پس از انتقال نشاء به زمین اصلی نیز مشاهده شده است. باکتری از طریق زخم‌هایی که روی ریشه ایجاد شده وارد برنج می‌شود (وبستر و گانل، ۱۹۹۲). باکتری عامل بیماری روی ذرت باعث پوسیدگی طوقه ذرت[2] می‌شود (وایت، ۱۹۹۹).

بیماری سوختگی گیاهچه برنج

بیماری سوختگی گیاهچه می‌تواند در اثر گونه *Pseudomonas marginalis* نیز ایجاد شود. کومار و ماهندرا (۲۰۰۲) این بیماری را از روی گیاهچه های برنج از هند گزارش نمودند. سوختگی و مرگ و میر گیاهچه از علائم این بیماری روی گیاهچه ها می‌باشد.

مواد و روش‌ها

نمونه برداری از خزانه در مرحله گیاهچه ای

نمونه برداری از خزانه های (سنتی و ماشینی) برنج مناطق مختلف استان مازندران (مناطق سردسیر، معتدله و ساحلی) و از ارقام محلی و پرمحصول برنج در مرحله گیاهچه ای صورت گرفت.(جدول۱). نمونه‌هایی از گیاهچه ، غلاف برگ و برگ که علائم پوسیدگی، لهیدگی، لکه نواری و پژمردگی را نشان می‌دادند، جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شد.

1 - Minor
2 - Stalk rot

نمونه برداری در مرحله آبستنی و خوشه دهی

مناطق برنج‌کاری شهرستان‌های استان مازندران شامل آمل، بابل، قائم شهر، فریدونکنار، محمودآباد، بابلسر، نور، چالوس و تنکابن در مرحله خروج خوشه از غلاف و گل‌دهی در ماه‌های تیر، مرداد و شهریور مورد بازدید قرار گرفت. نمونه‌هایی از غلاف و خوشه که علائم پوسیدگی و قهوه‌ای شدن را نشان می‌دادند جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند.

کشت و جداسازی از گیاهچه

نمونه‌هایی از گیاهچه یک بار در جریان ملایم آب معمولی و دو بار با آب مقطر سترون شستشو شدند. قسمت‌هایی از گیاهچه دارای علائم بیماری به قطعات کوچک‌تری تقسیم و در هاون چینی درون چند قطره آب مقطر سترون کوبیده شدند. پس از ۱۵ دقیقه نگهداری در دمای آزمایشگاه دو الی سه لوپ از سوسپانسیون حاصله روی محیط‌های کشت NA(Nutrient agar) EMB(Eusine methylen blue) KB, (King's B) مخطط شد. پس از ۴۸ الی ۷۲ ساعت نگهداری تشتک‌ها در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد، تک پرگنه های غالب رشد نموده روی محیط‌های کشت جدا و جهت اطمینان از خلوص آن، مجدداً روی محیط آگار غذایی مخطط شد.

کشت و جداسازی از غلاف انتهایی و خوشه

قسمت‌هایی از غلاف برگ پرچم و شلتوک که تغییر رنگ داشتند، به قطعات ریزتر تقسیم گردید و در جریان ملایم آب به‌مدت ۱۵ دقیقه شستشو داده شد. سپس قطعات درون آب مقطر سترون دو بار شستشو و در هاون محتوی مقداری آب مقطر سترون، خرد شدند. پس از ۱۵ دقیقه نگه‌داری در دمای آزمایشگاه، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از رقت‌های ۳-۱۰ و ۴-۱۰ سوسپانسیون به‌دست آمده از هر نمونه تهیه و روی محیط *Pseudomonas* agar F کشت داده شد. پس از ۷۲ ساعت نگه‌داری تشتک‌ها در دمای ۲۷ درجه سلسیوس تک پرگنه‌های غالب رشد نموده روی محیط کشت جداسازی گردید و جهت اطمینان از خلوص آن‌ها مجدداً روی محیط آگار غذایی کشت داده شد (شاد و همکاران، ۲۰۰۱ و فهی و پرسلی ۱۹۸۳).

بررسی خصوصیات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی جدایه‌ها

الف) جدایه های گیاهچه

از ۲۲۶ جدایه بدست آمده از گیاهچه و از نقاط مختلف استان مازندران که بر اساس آزمون‌های مربوطه انتخاب شده بودند، تعداد ۱۰۰ جدایه از مناطق و ارقام مختلف، انتخاب و آزمون‌های استاندارد باکتری شناسی در مورد آن‌ها صورت گرفت (شاد و همکاران، ۲۰۰۱). در خصوص جدایه های *Pectobacterium* علاوه بر آزمون واکنش فوق حساسیت روی توتون و شمعدانی، آزمون‌های توانایی ایجاد سایه سبز متالیک روی محیط کشت EMB، واکنش‌های اکسیداز، له نمودن برش‌های سیب زمینی، انجام شد.

ب) جدایه های غلاف و خوشه

از جدایه های به‌دست آمده از غلاف و خوشه نقاط مختلف استان مازندران نیز که بر اساس آزمون‌های واکنش فوق حساسیت روی توتون و شمعدانی گرم، اکسیداز و آرژنین دهیدرولاز انتخاب شده بودند، ۸۰ جدایه به‌عنوان نماینده منطقه و رقم انتخاب و آزمون‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی بر اساس روش‌های استاندارد باکتری شناسی (شاد و همکاران، ۲۰۰۱) روی آن‌ها انجام شد.

آزمون بیماری‌زایی روی برنج

الف) مایه‌زنی در مرحله گیاهچه ای

سوسپانسیونی از کشت ۲۴ ساعته جدایه‌ها با غلظت تقریبی ۱×۱۰^{۷}cfu/ml در آب مقطر تهیه و به روش تزریق مایه‌زنی صورت گرفت. برای تیمار شاهد از آب مقطر سترون استفاده شد.

ب) مایه زنی بذر و ایجاد علائم گیاهچه‌ای

بذر جوانه دار شده پس از ضدعفونی در سوسپانسیونی از کشت ۲۴ ساعته باکتری *Pseudomonas sp.* و *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* به غلظت تقریبی ۱×۱۰^{۷}cfu/ml به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در دستگاه ترموشیکر قرار گرفت. پس از این مدت بذر مایه زنی شده در انکوباتور در دمای ۲۵ درجه و رطوبت ۹۰ درصد قرار گرفت. تعدادی از بذر جوانه زده نیز در آب مقطر به عنوان شاهد آزمایش در نظر گرفته شد. پس از دو هفته بر اساس علائم ایجاد شده روی غلاف گیاهچه، بیماری زایی جدایه ها به اثبات رسید (Schaad *et al.* 2001). برای اثبات بیماری زایی گونه *P. carotovorum* subsp. *cartovorum* و *D. chrysanthemi* بذور جوانه دار شده در خاک سترون قرار گرفت و خاک با سوسپانسیونی از کشت جوان جدایه ها مایه زنی شد.

آزمون تعیین دامنه میزبانی

در این آزمون از چند گیاه زراعی و چند علف هرز خانواده غلات استفاده شد. از گیاهان زراعی گندم، جو، ذرت، یولاف، چاودار، سورگوم و ارزن، در مرحله گیاهچه‌أی و گندم در دو مرحله گیاهچه‌ای و آبستنی مایه زنی شدند. از علف‌های هرز سوروف، دم روباهی و بندواش در مرحله گیاهچه‌أی و غلاف‌دهی مایه زنی شدند. برای همه میزبان‌ها یک شاهد در نظر گرفته شد که با آب مقطر سترون مایه زنی شدند. پس از مایه زنی پلاستیک مرطوب به‌مدت ۴۸ ساعت روی گلدان‌ها قرار گرفت و گلدان‌ها در فضای مرطوب با رطوبت ۸۰ تا ۹۰ درصد قرار گرفتند. پیدایش لکه‌های آبسوخته و توسعه علائم و در نهایت نکروزه شدن بافت گیاه به عنوان واکنش بیماری زایی آن جدایه تلقی شد. از بافت دارای علائم پس از دو هفته مجدداً باکتری‌های مایه‌زنی شده جداسازی شد. و چند خصوصیت فنوتیپی و بیوشیمیایی و واکنش فوق حساسیت جدایه‌ها با باکتری مایه زنی شده مقایسه گردید.

برای تعیین دامنه میزبانی گونه *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* و *D. chrysanthemi* از ذرت استفاده شد. گیاهچه های ده روزه ذرت با سوسپانسیونی از کشت ۴۸ ساعته جدایه های *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* و *D. chrysanthemi* با غلظت تقریبی ۱×۱۰^{۷}cfu/ml به روش تزریق درون غلاف و طوقه مایه زنی شدند. پیدایش لکه‌های اولیه و پیشرفت علائم پژمردگی، مرگ جوانه مرکزی و پوسیدگی طوقه و غلاف به عنوان بیماری زا بودن جدایه تلقی شد.

مایه زنی غلاف برگ پرچم

سه رقم طارم محلی، ندا و فجر در مرحله آبستنی یا غلاف‌دهی مایه زنی شدند. سوسپانسیونی از کشت ۲۴ ساعته جدایه‌ها با غلظت $۱۰^{۷}$ cfu/ml در OD=۰/۶ و طول موج ۵۶۰ نانومتر در آب مقطر تهیه شد. مایه زنی غلاف برگ پرچم با سرنگ انسولین صورت گرفت. سوسپانسیون باکتری به اندازه یک یا دو میلی لیتر به داخل غلاف تزریق شد. پس از تزریق، گلدان‌ها به مدت ۴۸ ساعت زیر پلاستیک مرطوب در دمای ۲۵ الی ۲۸ درجه قرار گرفتند و برای مشاهده علائم مورد بازدید روزانه قرار گرفتند. پیشرفت و توسعه لکه روی غلاف، پیدایش لکه آبسوخته روی غلاف به عنوان بیماری زا بودن جدایه تلقی شد. پس از ده روز از غلاف‌هایی که علائم بیماری را نشان می‌دادند باکتری عامل بیماری مجدداً جداسازی شد.

مایه زنی خوشه

خوشه‌های سه رقم طارم محلی، ندا و فجر در مرحله گل‌دهی مایه زنی شدند. سوسپانسیونی از کشت ۲۴ ساعته جدایه‌ها با غلظت $۱۰^{۷}$ cfu/ml در OD=۰/۶ و طول موج ۵۶۰ نانومتر در آب مقطر تهیه و برای کم شدن کشش سطحی، به نسبت ۱ به ۲۰ با توئین ۸۰ مخلوط شد. سوسپانسیون حاصله در مرحله گل‌دهی روی گیاه اسپری پاشی شد. پس از مایه زنی و اسپری پاشی گلدان‌ها به مدت ۴۸ ساعت زیر پلاستیک مرطوب در دمای ۲۵ الی ۲۸ درجه قرار گرفتند و برای مشاهده علائم هر روز مورد بازدید قرار گرفتند. پیدایش لکه‌های قهوه‌ای روی شلتوک‌ها و پیشرفت علائم و تیره شدن رنگ لکه‌ها روی خوشه به عنوان بیماری‌زا بودن جدایه تلقی شد. از شلتوک‌های دارای علائم نمونه‌برداری و باکتری عامل بیماری از آن جدا و چند خصوصیت بیوشیمیایی آن با باکتری مایه‌زنی شده مقایسه شد.

نتایج و بحث

طی ۸ سال مطالعه و اجرای ۴ پروژه تحقیقاتی در خصوص بیماری‌های باکتریایی برنج در استان مازندران نتایج و اطلاعات ذیل به دست آمد.

الف) بیماری‌های باکتریایی در خزانه

طی نمونه‌برداری‌های صورت گرفته از خزانه‌های برنج در استان مازندران، آلودگی خزانه‌های ارقام محلی و پرمحصول به عوامل بیماری‌زای باکتریایی محرز شد. نتایج حاصله از جداسازی‌ها نشان داد ارقام محلی بیشتر از ارقام پرمحصول به عامل بیماری لکه نواری (*A. avenae* subsp. *avenae*) و سوختگی گیاهچه ناشی از گونه *Pseudomonas marginalis* و *Pseudomonas sp.* آلوده بودند. ولی آلودگی ارقام پرمحصول به گونه‌های *Pectobacterium* بیشتر از ارقام محلی مشاهده شد. در خزانه‌ها سه نوع علائم روی گیاهچه ها مشاهده شد. ۱- علائم لکه نواری یا نوار قهوه ای غلاف و برگ، که در اکثر موارد آلودگی شدید گیاهچه منجر به مرگ و سوختگی گیاهچه شد. ۲- علائم پژمردگی و مرگ جوانه مرکزی گیاهچه که در نهایت به صورت لهیدگی در منطقه پایه[1] و سوختگی کامل گیاهچه مشاهده شد. این قبیل گیاهچه ها به راحتی از محل طوقه جدا می‌شدند. ۳- سوختگی کامل گیاهچه ها در مواردی با لهیدگی در ناحیه پایه گیاهچه همراه نبود و گیاهچه با ریشه و بذر از خاک خزانه خارج می‌شد.

در جداسازی باکتری‌های بیماری زا از گیاهچه برنج، چند گروه از باکتری‌ها روی محیط‌های کشت قابل شناسایی بودند. گروه اول گونه‌هایی که روی محیط سودوموناس اف نور فلورسنت تولید نموده و روی شمعدانی و توتون واکنش فوق حساسیت ایجاد نموده و تعدادی از آن‌ها نیز قادر به له نمودن ورقه های سیب زمینی شدند (*P. marginalis, Pseudomonas sp.*) و تعدادی قادر به ایجاد واکنش فوق حساسیت نبودند (*P. marginalis*). گروه دوم گونه‌هایی که روی محیط ائوزین متلین بلو (EMB) سایه سبز متالیک داشتند که تعدادی از آن‌ها روی شمعدانی و توتون واکنش فوق حساسیت ایجاد نموده و در مقابل آنتی‌بیوتیک اریتره حساسیت نشان دادند (*D. chrysanthemi*) و تعدادی از جدایه ها قادر به ایجاد واکنش فوق حساسیت نبودند و در مقابل آنتی‌بیوتیک اریتره مقاومت نشان دادند (*Pectobacterium carotovorum*). این گروه قادر به له نمودن ورقه های سیب زمینی بوده و در شرایط بی هوازی و تخمیری قادر به استفاده و تولید اسید از گلوکز بودند. گروه سوم گونه ای که نور فلورسنت تولید ننموده و روی توتون و شمعدانی واکنش فوق حساسیت ایجاد نمودند و قادر به استفاده از سوکروز نبوده و اکسیداز مثبت داشتند (*A. avenae* subsp. *avenae*).

بیماری زایی جدایه ها روی گیاهچه های ارقام طارم محلی و فجر به اثبات رسید. در اثبات بیماری‌زایی جدایه ها در گلخانه، علائم ایجاد شده توسط باکتری *A. avenae* subsp. *avenae* به صورت نوار آبسوخته در غلاف برگ و برگ پایینی گیاهچه در مرحله ۳ الی ۴ برگی گیاهچه مشاهده

1 - Foot

شد. در اکثر موارد آلودگی شدید گیاهچه منجر به مرگ گیاهچه و سوختگی کامل آن شد. همچنین در آزمون بیماری زایی مشخص شد، علائم ایجاد شده توسط باکتری *Dickeya chrysanthemi* و *Pectobacterium carotovorum*. به صورت پژمردگی و سوختگی کامل گیاهچه و لهیدگی در ناحیه طوقه گیاهچه می‌شود. گونه های *Pseudomonas marginalis* و *Pseudomonas sp.* باعث جلوگیری از جوانه زنی بذر، سوختگی بذر در مراحل اولیه جوانه زنی، سوختگی گیاهچه و لکه های قهوه ای در ناحیه غلاف گیاهچه می‌شود. تعدادی از این گونه‌ها (*Pseudomonas sp.*) علاوه بر سوختگی گیاهچه، علائم پوسیدگی غلاف برگ پرچم و قهوه ای شدن خوشه را ایجاد نمودند. در مایه زنی گیاهچه و بذر، علائم ایجاد شده روی غلاف گیاهچه به صورت لکه های قهوه ای آبسوخته و کمرنگ که قابل پیشرفت بوده و پس از یک هفته باعث مرگ جوانه مرکزی گیاهچه و سوختگی کامل گیاهچه شدند. تعدادی از همین جدایه ها باعث پوسیدگی غلاف برگ پرچم و تغییر رنگ خوشه شدند. در آزمون بیماری زایی ، همه جدایه های *Pseudomonas marginalis* ،*Pseudomonas sp.* روی گیاهچه ها و بذور جوانه دار شده ارقام طارم، ندا و فجر بیماری زا بوده و درجات مختلفی از بیماری زایی را نشان دادند. در تعیین دامنه میزبانی، همه جدایه های *D. chrysanthemi* و بعضی از جدایه‌های *Pectobacterium carotovorum*. روی ذرت بیماری ایجاد نموده و باعث پژمردگی، مرگ جوانه مرکزی، پوسیدگی و لهیدگی در مرحله گیاهچه ای شدند .بنابراین ذرت می‌تواند به عنوان یک میزبان طبیعی باعث بقاء و دوام گونه های مذکور شده و جمعیت آن را در طبیعت حفظ نماید (وایت ۱۹۹۹).

در این تحقیق مشخص شد که خزانه های ماشینی(کشت مکانیزه) و سنتی زیر پلاستیک، به عوامل بیماری‌زای بذر زاد و خاکزاد آلوده بوده و معمولاً در یک خزانه دو یا سه عامل بیماری‌زای باکتریایی به صورت توأم باعث آلودگی گیاهچه ها شده بودند. درصد آلودگی به عامل بیماری لکه نواری باکتریایی معمولاً در خزانه های محلی بیشتر بوده و بین صفر الی نه درصد گزارش می‌شود. ارقام پرمحصول ندا، فجر و هراز نیز آلوده به عامل بیماری لکه نواری بودند که آلودگی بین صفر الی یک درصد بوده است. درصد آلودگی بیماری سوختگی گیاهچه که علائم آن به صورت لهیدگی و پوسیدگی کامل گیاهچه مشاهده شد بین صفر الی ۴/۵ درصد در ارقام محلی و صفر الی سه درصد در ارقام پرمحصول بوده است. آلودگی اکثر خزانه‌ها به گونه خاکزی *Pectobacterium carotovorum* و *Dickeya chrysanthemi* روی ارقام محلی و پرمحصول برنج محرز می‌باشد. در چند مورد آلودگی بالای سینی خزانه به باکتری *D. chrysanthemi* و *Pectobacterium carotovorum*. مشاهده شد به طوری که حدود ۶۰ درصد خزانه به علت شیوع بیماری پوسیدگی طوقه از بین رفته بود. آلودگی خزانه‌ها به گونه های جنس *Pseudomonas sp.* و *P. marginalis* روی ارقام محلی و پرمحصول مشاهده

شد که در مقایسه با عوامل مذکور آلودگی بالایی نداشته و یک درصد از گیاهچه ها به این باکتری آلوده بودند. در خصوص بیماری سوختگی گیاهچه که عامل آن *P. marginalis* گزارش شده، فقط یک گزارش از منطقه رنچی (Ranchi) در هند وجود دارد و از میزان خسارت یا آلودگی آن اطلاعات بیشتری در دسترس نیست (کومار و ماهندرا ۲۰۰۲).

ب) بیماری‌های باکتریایی در زمین اصلی

۱- ب) در مرحله آبستنی

در مدت سه سال نمونه برداری از مزارع برنج استان در مرحله آبستنی و خوشه دهی علائم بیماری پوسیدگی غلاف برگ پرچم و قهوه ای شدن خوشه‌ها مشاهده شد. بر اساس مشاهدات و نمونه برداری‌های صورت گرفته به نظر می‌رسد شدت و وقوع بیماری تحت تأثیر شرایط آب و هوایی بوده به طوری که در سال‌هایی که زمان آبستنی و خروج خوشه های اولیه گیاه مصادف با بارندگی‌ها و هوای خنک باشد، بیماری شیوع بیشتری داشته و درصد آلودگی گیاه به عامل بیماری بیشتر مشاهده می‌شد. در تحقیق صورت گرفته مشخص شد علاوه بر قارچ‌ها بعضی از گونه های باکتریایی نیز می‌توانند باعث ایجاد پوسیدگی غلاف انتهایی غلاف شوند. مطالعات مزرعه ای نشان داد که بیماری پوسیدگی غلاف به صورت پراکنده روی ارقام محلی و پرمحصول و در اکثر مناطق عمده برنج‌کاری استان مازندران شایع است. بیماری پوسیدگی باکتریایی غلاف روی ارقام محلی آلودگی بیشتری نسبت به ارقام پرمحصول داشته و همچنین درصد بالاتری از مزارع زیر کشت ارقام محلی آلوده به باکتری عامل بیماری بوده‌اند. ولی در گلخانه ارقام پرمحصول مثل ندا، نعمت و فجر حساسیت بیشتری را در مقابل جدایه های بیماری زا نشان داده و درصد آلودگی و شدت آلودگی بیشتری را نشان دادند(رستمی و همکاران، ۱۳۸۸). در جداسازی‌ها چندین جنس و گونه از غلاف برگ پرچم و خوشه های دارای علائم شناسایی شدند. مهم‌ترین آن‌ها گونه های *P. fuscovaginae* و *P. syringae* شناسایی شدند. نتایج حاصله از تعیین درصد آلودگی ارقام مختلف در مزارع در سال‌های ۱۳۸۲ و ۱۳۸۳ نشان داد که آلودگی عمدتاً حدود ۲ تا ۳/۵ درصد متغیر بوده و در مواردی نادر تا ۷ درصد نیز آلودگی ایجاد نموده است. با این وجود به نظر می‌رسد این بیماری در حال حاضر خسارت‌هایی را روی برنج ایجاد نماید که البته این خسارت همیشه چشمگیر نبوده است چرا که همه مزارع و در همه سال‌ها این بیماری با اپیدمی بالا مشاهده نشده است. با این وجود اپیدمی‌هایی از این بیماری به صورت پراکنده در نقاطی از استان مشاهده شده است. برای مثال در سال ۱۳۸۲ مزرعه زیر کشت رقم ندا در دو نقطه از دشت سر آمل (روستای نوده) شدیداً به باکتری‌های *P. agglomerances* , *P. fuscovaginae* آلوده شده بود. بر اساس مشاهدات، مزرعه بالای ۷۰ درصد علائم تغییر رنگ شدید خوشه‌ها و به صورت جزئی پوسیدگی غلاف را نشان می‌داد که خسارت سنگینی را به همراه داشت. همچنین در مزرعه دیگری در منطقه

پل‌سفید سوادکوه روی رقم گرده محلی علائم تغییر رنگ خوشه روی ۴۰ درصد از خوشه‌ها مشاهده شد که باعث پوکی خوشه‌ها شده بود. در این مزرعه باکتری *P. syringae* از خوشه‌های دارای علائم جداسازی و اثبات بیماری‌زایی شد. این بیماری در سال ۱۳۸۸ نیز خسارت‌هایی را به محصول برنج در مناطق کوهستانی و سردسیر ایجاد نموده است و روی ارقام محلی باعث ایجاد خسارت شده است. بر اساس نمونه برداری‌های صورت گرفته، مشخص شد که خسارت بیماری در نقاط کوهستانی و سرد بشتر بوده و با درصد بالایی از پوکی شلتوک همراه می‌باشد.

نتایج حاصل از آزمون‌های بذری، نشان داد که عوامل این بیماری (*P. fuscovaginae* و *P. syringae*) می‌توانند بذرزاد باشد. چرا که هر دو عامل باکتریایی بیماری از بذرهای تغییر رنگ یافته (قهوه‌ای شده) از طبیعت جداسازی شدند. همچنین باکتری‌های عامل بیماری از بذوری که در مرحله گل‌دهی در گلخانه مایه‌زنی شده بودند، نیز جداسازی شد. گیاهچه‌های حاصله از جوانه‌زنی بذور تغییر رنگ یافته علائم متنوعی را نشان دادند. عدم جوانه‌زنی مطلوب بذر، ایجاد گیاهچه های ناقص و کج و معوج همراه با لکه‌های قهوه‌ای، رشد ضعیف گیاهچه که در نهایت منجر به خشکیدگی گیاهچه شد. این نتایج نشان داد که عامل بیماری می‌تواند با بذر منتقل شود و همچنین می‌تواند از بذر به گیاهچه منتقل و باعث آلودگی گیاهچه شود. بنابراین عامل بیماری طبیعت بذرزادی داشته و می‌تواند از یک فصل زراعی به فصل زراعی بعد منتقل شود. با این وجود به نظر می‌رسد که این تنها راه انتقال عامل بیماری نیست چرا که ممکن است عامل بیماری بتواند از طریق بقای ساپروفیتی روی بقایای برنج و یا بقای اپیفیتی روی علف‌های هرز موجود در مزارع برنج از سالی به سال بعد بقاء یابد (میاجیما، ۱۹۸۳ و وبستر و گانل، ۱۹۹۲). این نکته در آزمون تعیین دامنه میزبانی به اثبات رسید. تعدادی از گیاهان زراعی خانواده غلات مانند گندم، ذرت، سورگوم، یولاف، چاودار و جو و تعدادی از علف‌های هرز این خانواده مثل بندواش و دم روباهی در مقابل جدایه های عامل بیماری حساسیت نشان داده و علائم بیماری را نشان دادند. البته در این میان سوروف هیچ‌گونه علائمی را نشان نداد. و اینکه آیا این گیاه و دیگر علف‌های هرز خانواده غلات می‌توانند بدون ایجاد هر گونه علائمی باعث بقاء اپیفیتی عامل بیماری شوند، نیاز به مطالعه دارد. در این تحقیق مشخص شد جدایه‌هایی که به *P. fuscovaginae* شباهت داشتند دامنه میزبانی وسیع‌تری نسبت به *P. syringae* داشته و به لحاظ شدت بیماری‌زایی نیز علائم شدیدتری را روی میزبان‌های خود ایجاد نمودند.

۲- ب) در مرحله خوشه دهی

طی نمونه برداری‌های صورت گرفته از مزارع برنج استان مازندران ، آلودگی خوشه به باکتری‌های بیماری زا که اکثراً از گروه باکتری‌های ایجاد کننده تغییر رنگ خوشه بودند، به اثبات رسید. بیماری در نقاط پایین دست و دشت با شدت بالاتری مشاهده شده و عقیمی و

پوکی نیز در تعدادی از مزارع قابل توجه بوده است. در جداسازی از نمونه‌های دارای علائم چندین جنس و گونه شناسایی شد. بیماری زایی گونه *Pantoea ananas* روی خوشه های برنج در مرحله گل‌دهی به اثبات رسید. نتایج بدست آمده از این تحقیق با نتایج حاصل از مطالعات گوانلین (۲۰۰۱) و آزگامی و همکاران (۱۹۸۳) مطابقت داشت. آن‌ها در مطالعات خود *Erwinia herbicola* و *Pantoea agglomerans* را به عنوان عامل قهوه ای شدن پالئا گزارش نمودند. در دنیا تنها یک گزارش از شناسایی گونه *Pantoea ananas* مربوط به کوتر و همکاران (۲۰۰۴) از استرالیا وجود دارد.

گونه های دیگری که مورد شناسایی قرار گرفتند *P. syringae* و *Pseudomonas sp.* از گروه *Pseudomonas* های فلورسنت بودند که درجات مختلفی از بیماری زایی را روی خوشه ایجاد نمودند. این نتایج با نتایج حاصل از مطالعات کوتین و همکاران(۱۹۹۶ و ۲۰۰۱) مطابقت دارد. با این وجود در مطالعات آن‌ها گونه های بیماری‌زای *Pseudomonas fuscovaginae*, *Xanthomonas* *oryzae* pv *oryzae* و *X. oryzae* pv *oryzicola* نیز از نمونه‌های بذری جداسازی و شناسایی شد. در مطالعه دیگری که گوانلین و همکاران(۲۰۰۱) در استان زجیانگ چین در سال‌های ۱۹۹۷ الی ۲۰۰۰ انجام داده بودند، گونه های *Xanthomonas oryzae* pv *oryzicola*, *Pseudomonas fuscovaginae* و *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* گزارش شد.

علاوه بر گونه های اشاره شده، گونه *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* نیز از بذور تغییر رنگ یافته و سالم جداسازی شدند که در آزمون بیماری زایی روی خوشه‌ها علائم بیماری را نشان دادند. البته در بین این گونه‌ها ، گونه*A. avenae* subsp. *avenae* باعث تغییر رنگ خوشه و پوسیدگی غلاف و محور گل آذین خوشه شد. .

گونه های *Pantoea ananas* و *Pseudomonas sp.* گونه های غالبی بودند که در اکثر نمونه‌ها جداسازی و شناسایی شدند. البته در این میان گونه *Pantoea ananas* ، فراوانی و غالبیت بیشتری داشته است. در جداسازی‌ها از نمونه های خوشه جمع آوری شده مشخص شد، دو گونه *Pantoea ananas* و *Pseudomonas sp.* به صورت پراکنده روی ارقام محلی و پرمحصول وجود داشته ولی ارقام محلی آلودگی بیشتری به این دو گونه نشان دادند. در مجموع از اکثر نمونه های بذری گونه بیماری زا روی خوشه برنج گونه *Pantoea ananas* بود که واکنش فوق حساسیت آن روی شمعدانی مثبت بود. نتایج حاصل از آزمون بیماری زایی گونه های مذکور روی خوشه در ارقام فجر و طارم محلی نشان داد که گونه *Pantoea ananas* در مقایسه با گونه *Pseudomonas sp.* بیماری زایی ضعیف‌تری داشته و درصد کمتری از شلتوک‌ها روی خوشه به آن آلوده شده و میزان پوکی شلتوک‌ها روی خوشه کمتر مشاهده شد به طوری که بین ۷ تا ۲۵ درصد از شلتوک‌ها روی خوشه دچار علائم تغییر رنگ شده بودند. نتایج بدست آمده از این تحقیق با نتایج حاصل از مطالعات گوانلین (۲۰۰۱) از چین تا حدودی مطابقت داشت. در این گزارش میزان تغییر رنگ شلتوک‌ها روی

خوشه ۲/۱ الی ۱۲/۶ درصد گزارش شد. در مقایسه جدایه های *Pseudomonas sp.* درجات بالاتری از بیماری زایی را روی خوشه‌ها نشان داده و درصد بالاتری از شلتوک را آلوده نمودند. آزمون بیماری زایی روی ارقام فجر و طارم محلی نشان داد که ارقام پرمحصول حساسیت بیشتری را به گونه های مذکور نشان داده به طوری که علائم بیماری روی ارقام پرمحصول در گلخانه درصد آلودگی و شدت آلودگی بالاتری را نشان داد. بنابراین گونه *Pantoea annanas* برای اولین بار از روی برنج در ایران و مازندران گزارش می‌شود.

پیشنهادات

در آینده ضروری است در ارتباط با موقعیت فیلوژنتیکی و تنوع ژنتیکی گونه‌های بیماری‌زای باکتریایی معرفی شده در این تحقیق و مقایسه آن با استرین های استاندارد ، همچنین در ارتباط با اپیدمیولوژی بیماری‌های ناشی از آن‌ها، مقایسه ارقام برنج از لحاظ حساسیت و تحمل به عوامل باکتریایی، برآورد خسارت بیماری‌های ناشی از آن و شناسایی عوامل بیولوژیک کنترل کننده عوامل بیماری‌زای باکتریایی مطالعاتی صورت پذیرد.

منابع

۱. آسمانی نژاد حسن کیاده، ا، م، نیک نژاد کاظم پور ، ف، پاداشت و ح، رحیمیان. ۱۳۸۷. بررسی انتقال باکتری *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* از طریق بذور برنج با استفاده از روش BIO- PCR.. خلاصه مقالات هجدهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران. صفحه ۴۰۴.

۲. آسمانی نژاد حسن کیاده، ا، م، نیک نژاد کاظم پور ، ف، پاداشت و ح، رحیمیان. ۱۳۸۷. جداسازی و شناسایی باکتری *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* از خوشه های برنج در مزارع استان گیلان. خلاصه مقالات هجدهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران. صفحه ۴۶۲.

۳. رستمی، م، ا، قاسمی، ح، رحیمیان و و، خسروی ۱۳۸۸. بیماری پوسیدگی باکتریایی غلاف برنج در استان مازندران. مجله بیماری‌های گیاهی. فصلنامه علمی- پژوهشی انجمن بیماری شناسی گیاهی ایران. ۴۵(۳): ۲۲۷-۲۱۳.

۴. رستمی، م، ح، رحیمیان، و ا، قاسمی. ۱۳۸۴. شناسایی *Pseudomonas fuscovaginae* عامل بیماری پوسیدگی قهوه ای غلاف برنج در شمال ایران. مجله بیماری‌های گیاهی. فصلنامه علمی- پژوهشی انجمن بیماری شناسی گیاهی ایران. ۴۱(۱): ۱۴۴-۱۴۳.

۵. رستمی، م، ح، رحیمیان، و ا، قاسمی. ۱۳۸۴. شناسایی *Pectobacterium chrysanthemi* ، عامل بیماری پوسیدگی طوقه برنج در استان مازندران. مجله بیماری‌های گیاهی. فصلنامه علمی- پژوهشی انجمن بیماری شناسی گیاهی ایران. ۴۱(۱): ۱۴۶-۱۴۵.

۶. صابری، ا، ن، صفایی و ح، رحیمیان ۱۳۸۶. موقعیت تاکسونومیکی استرین های باکتریایی مرتبط با پوسیدگی باکتریایی غلاف برنج در مازندران. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تربیت مدرس، ۱۲۸ صفحه.

7. Azegami, K., Ozaki, K., & Matsuda, A. 1983. Bacterial palea browning, a new disease of rice caused by *Erwinia herbicola*. *Bulletin of the National Institute of Agricultural Sciences Series*. 39: 1- 12.
8. Bhutta, A. R., & Ahmad, S. I. 1994. Detection of bacterial pathogens in paddy seed lots in Pakistan. *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research*. 37: 382- 384.
9. Cother, E. J., Reinke, R., Mckenzie, C., Lanoiselet, V. M., & Noble, D. H. 2004. An unusual stem necrosis of rice caused by *Pantoea ananas* and the first record of this pathogen on rice in Australia. *Australasian Plant Pathology*. 33: 495- 503.
10. Cottyn, B., Regalado, E., Lanoot, B., De Cleene, M., Mew, T. W., & Swings, J. 2001. Bacterial populations associated with rice seed in the tropical environment. *Phytopathology*. 91: 282-292.
11. Cottyn, B., Cerez, M. T., Vanoutryve, M. F., Barroga, J., Swing, J., & Mew, T.W. 1996. Bacterial diseases of rice, I. Pathogenic bacteria associated with sheath rot complex and grain discoloration of rice in the Philippines. *Plant Diseases*. 80: 429-437.
12. Fahy, P. C., & Persley, G. J. 1983. Plant Bacterial Diseases: A diagnostic guide. Academic Press, Inc. New York. 389p.
13. Guanlin, X. 2001. First report of palea browning in China and characterization of the causal organism by phenotypic tests and Biolog. *IRRN*, 26, 25-26.
14. White, D. G. 1999. Compendium of Corne Diseases. Third edition. APS Press. 78p.
15. Jaunet, T. 1996. Pathogenicity of process of *Pseudomonas fuscovaginae* the causal agent of sheath brown rot of rice. *Journal of Phytopathology*. 144(9-10): 423- 430.
16. Kadota, I. 1996. Studies on the pathogen of bacterial brown stripe of rice and its cology. Bulletin of the Hokuriku. *National Agricultural Experiment Stations*. 38: 113- 171.
17. Kumar, A., & Mahendra, P. 2002. Pathology of a rice disease due to *Pseudomonas marginalis* (Brown) Stevens reported from Ranchi. *Plant Science*. 15(1): 115- 122.

18. Mew, T. W., & Misra, J. K. 1994. A Manual of Rice Seed Health Testing. International Rice Research Institute. LosBanos, Laguna, Philippines. 113p.
19. Miyajima, K., Tanii, A., and Akita, T. 1983. *Pseudomonas fuscovaginae* sp. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 33: 656- 657.
20. Rahimian, H. 1986. Incidence of bacterial stripe of rice in Iran. *Iran Agricultural Research*. 5: 63- 71.
21. Rott, P., Nottheghem, J. L., and Frossard, P. 1989. Identification and characterization of *Pseudomonas fuscovaginae*, the causal agent of bacterial sheath brown rot of rice, from Madagascar and other countries. *Plant Disease*. 73: 133- 137.
22. Schaad, N. W., Jones, J. B., & Chun, W. 2001. Laboratory Guid for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. New York. 3rd American Phytopathology Society Press. 373p.
23. Shakya, D. D., Chung, H. S., & Vinther, F. 1986. Transmission of *Psedomonas avenae* the cause of bacterial stripe of rice. *Journal of Phytopathology*. 116: 92- 96.
24. Webster, R. K., & Gunnell, P. S. 1992. Compendium of Rice Diseases. New York: American Phytopathology Society Press. 62p.
25. White, D. G. 1999. Compendium of Corne Diseases. Third edition. APS Press. 78p.
26. Zeigler, R. S., and Alvarez, E. 1987. Bacterial sheath brown rot of rice caused by *Pseudomonas fuscovaginae* in Latin America. *Plant Disease*. 71: 592- 597.
27. Zeigler, R. S., Aricapa, G., & Hoyos, E.(1987). Distribution of fluorescent *Pseudomonas* spp. Causing grain and sheath discoloration of rice in Latin America. *Plant Disease*. 71: 894- 900.