

## نقش اندام های مختلف میزبان در ایجاد و بقاء بیماری آتشک درختان میوه دانه‌دار (*Erwinia amylovora*)

فرخنده امتی<sup>۱</sup> و مسعود ذاکر<sup>\*</sup>

مربیان پژوهش بخش تحقیقات گیاه پزشکی، مرکز تحقیقات کشاورزی سمنان (شاهرود).

\* مسئول مکاتبه: [masoudzaker35@gmail.com](mailto:masoudzaker35@gmail.com)

تاریخ پذیرش: ۹۳/۰۴/۱۴

تاریخ دریافت: ۹۲/۰۷/۲۳

### چکیده

به منظور بررسی نقش اندام های مختلف آلوده درختان میوه دانه دار در ایجاد و بقاء بیماری آتشک با عامل *Erwinia amylovora* طی فصل های مختلف سال های ۱۳۸۷-۱۳۸۶، تعداد سیزده باغ در مناطق مختلف استان سمنان انتخاب و از اندام های مختلف دانه دارها نمونه برداری گردید. نمونه های مختلف در محیط سوکروز-آگار غذایی کشت شده و نسبت به تعیین جمعیت باکتری عامل بیماری اقدام شد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد جمعیت اپی فیتی  $10^6 - 10^3 \times 3$  واحد تشکیل دهنده کلنی در گل (cfu/flower) باکتری در سطح هر گل درختان گلابی و تعداد  $10^7 - 10^6 \times 3$  در درختان به، منجر به ظهور بلایت شکوفه در شرایط روزهای نسبتاً معتدل و بارانی فصل بهار گردید. همچنین مشخص گردید، درختان میوه دانه دار در مناطق مختلف استان آلوده به باکتری عامل بیماری بوده و در بین درختان میوه دانه دار بیشترین درصد آلودگی بترتیب مربوط به درختان به (۸۸٪)، گلابی (۵۵٪) و سیب (۲۴٪) بود. نقش اندامهای مختلف در بقاء عامل بیماری تحت تاثیر شرایط اقلیمی و میزبان بود بطوریکه کلیه اندامهای درختان به بیشترین میزان آلودگی به باکتری *E. amylovora* را به خود اختصاص دادند. نتایج در مجموع نشانگر آن بود که اگرچه اندام های مختلف گیاه میزبان توان نگهداری آلودگی را تا فصل بعد داشته و توانستند باعث انتقال بیماری از سالی به سال دیگر شوند لکن در این میان شانکرهای روی تنه و شاخه های اصلی با آلودگی یک ساله مهم ترین منبع انتقال بیماری به سال بعد بودند.

واژه‌های کلیدی: آتشک، اندام آلوده، بقاء، درختان میوه دانه‌دار، استان سمنان.

### مقدمه

جهان گزارش شده است (وندرزوت ۲۰۰۶). وجود این بیماری در ایران برای اولین بار در سال ۱۳۷۰ از برغان کرج از روی درختان گلابی گزارش شد (ذاکری و شریف نبی ۱۳۷۰). در سال ۱۳۷۳ وقوع بیماری در قزوین و سلماس دیده شد (مزارعی و همکاران ۱۳۷۳)، همچنین افیونیان و همکاران (۱۳۷۹) ظهور آن را در استان‌های آذربایجان غربی و قزوین از درختان سیب، گلابی، به و گل سرخ و سپس از روی زالزالک، ازگیل و پیراکانتا از کرج گزارش کردند. امیدوار و همکاران

بیماری آتشک با عامل *Erwinia amylovora* (Burill) Winslow et al. یکی از مهم ترین بیماری های است که باعث خسارت شدید به تعداد زیادی از گیاهان تیره Rosaceae از جمله به، گلابی و سیب می گردد (اردوکس و همکاران ۲۰۰۶). بیماری آتشک در سال ۱۹۸۵ از کشور ترکیه گزارش شد و احتمالاً در سال ۱۹۸۹ از شرق ترکیه وارد ایران شده است (ونسته ۲۰۰۰). این بیماری تا به حال از بیش از ۴۶ کشور

نسبت به نمونه برداری از اندام های آلوده از جمله گل، برگ، میوه و شانکرهای شاخه و تنه و انتقال آنها به آزمایشگاه اقدام گردید. اندام های مختلف پس از ضدعفونی سطحی به مدت یک دقیقه با محلول نیم درصد هیپوکلریت سدیم و شستشو با آب مقطر استریل در شرایط سترون در هاون چینی خرد شده و ۱۰۰ میکرولیتر از محلول حاصله روی محیط سوکروز-آگار غذایی کشت گردیده و به مدت ۴۸ ساعت در درون انکوباتور در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. باکتری های تولید کننده لوان انتخاب شده و روی محیط آگار غذایی به تعداد سه بار برای به دست آوردن باکتری خالص مخطط گردیدند. محلولی از هر استرین در آب مقطر استریل تهیه شده و جهت مطالعات بعدی در دمای پنج درجه سانتی گراد نگهداری شدند (تامسون و همکاران ۱۹۸۲).

#### آزمون بیماری زایی

میوه های نارس و شاخه های بریده گلایی در شرایط آزمایشگاهی با سوسپانسیون تازه باکتری با غلظت  $10^8$  سلول در میلی لیتر مایه زنی گردیده و در شرایط مرطوب (دسیکاتور) به مدت یک هفته نگهداری شدند (شاد ۱۹۸۸).

#### آزمون های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی

آزمون واکنش گرم با استفاده از روش حلالیت در KOH سه درصد (ساسلو و همکاران ۱۹۸۲)، آزمون رشد هوازی/بی هوازی به روش هیو و لیفسون (۱۹۵۳)، آزمون فوق حساسیت در توتون به روش کلمنت و همکاران (۱۹۶۴) و آزمون آرچی-نین-دهیدرولاز با استفاده از روش تورنلی (۱۹۶۰) انجام گرفت. همچنین آزمون هیدرولیز توئین ۸۰ بر اساس روش میثاقی و گروگان (۱۹۶۹) و آزمون تولید لسیتیناز با استفاده از روش للیوت و استید (۱۹۸۷) انجام شد. آزمون اکسیداز با قرار دادن گستره‌ای از کلونی روی کاغذ صافی آغشته به محلول ۰/۱ درصد تترامیتیل پارافنیلین دی

(۱۳۸۵) تعداد ۳۷ استرین باکتری متعلق به میزبان ها و نواحی مختلف را از لحاظ ویژگی های بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی، تغذیه ای و الگوی پروتئینی مورد مقایسه قرار دادند و گزارش کردند که این استرین ها از نظر ویژگی های فنوتیپی و مقایسه الگوی پروتئینی دارای سطح تشابه بالایی بودند. باکتری *E. amylovora* در اندام های آلوده میزبان زمستان گذرانی کرده و منبع زادمایه سال بعد را تامین می نماید. در کلیه اندام های آلوده شامل شکوفه، سرشاخه و تنه تحت شرایط مناسب رطوبتی شیرابه که حاوی پلی ساکاریدهای ترشح شده و سلول های *E. amylovora* است از محل آلودگی به بیرون تراوش نموده و موجب جلب حشرات به ویژه مگس ها می شود. بررسی های انجام شده نشان داده که تنها ۱۰٪ از زخم های ایجاد شده حاوی باکتری فعال هستند و تعداد کمتری از این زخم ها شیرابه تولید می کنند ولی همین تعداد کم منبع انتشار باکتری را در کل باغ فراهم می نمایند (بیر و نورلی ۱۹۷۷). تایلر و همکاران (۲۰۰۲) با آلوده سازی مصنوعی کاسبرگ های سیب با یک استرین مقاوم به آنتی بیوتیک ریفامپین و پخش نمودن آن ها در باغ سیب در زمان گلدهی نتیجه گرفتند که کاسبرگ های آلوده نقشی در انتشار بیماری نداشتند. با توجه به اهمیت درختان میوه دانه دار در استان سمنان و از طرف دیگر اهمیت اقتصادی بیماری آتشک، هدف این تحقیق شناسایی میزبانهای ثانوی و اپیفیتی باکتری عامل بیماری، زمستان گذرانی عامل بیماری و شناسایی منابع زادمایه زمستان گذران آن جهت مدیریت هر چه بهتر بیماری در شرایط آب و هوایی منطقه بود.

#### مواد و روش ها

نمونه برداری، جداسازی و شناسایی عامل بیماری طی فصول بهار و تابستان سالهای ۱۳۸۶ و ۱۳۸۷ از تعداد سیزده باغ درختان میوه دانه دار واقع در مناطق زیراستاق (سعد آباد، بدشت، قلعه نو، یونس آباد) بسطام و پشت بسطام، مجن و شه میرزاد بازدید و

بررسی جمعیت اپیفیتی باکتری روی گلها ی سایر درختان میوه

بدین منظور در زمان گلدهی درختان میوه هسته دار دستجات گل درختان آلبالو، گیلاس، هلو، شلیل و زردآلو جمع آوری و پس از انتقال به آزمایشگاه ۱۰۰ میکرو لیتر از سوسپانسیون آبشویی حاصله در تشتکهای پتری روی محیط NAS کشت و در دمای  $25 \pm 2$  به مدت ۴۸ ساعت نگهداری گردید تا در صورت وجود باکتری نسبت به شمارش کلونیهها اقدام شود (تامسون و همکاران ۱۹۸۲).

بررسی منابع زادمایه زمستان گذران

بدین منظور از اندامهای مختلف درختان آلوده باقی مانده سال قبل از جمله گل، برگ، میوه، و شانکر شاخه و تنه یک یا دو هفته قبل از شروع گلدهی نمونه برداری و پس از شستشو در جریان ملایم آب معمولی و آب مقطر استریل در هاون چینی حاوی چند میلی لیتر آب مقطر استریل خرد شده سپس سوسپانسیون حاصله روی محیط NAS مخطط گردید (تامسون و همکاران ۱۹۸۲). در روش دیگر جهت شناسایی شانکرهای حاوی باکتری فعال، با کشیدن گوش پاک کن سترون در حاشیه آنها و سپس کشت روی محیط NAS اقدام شد (بیر و نورلی ۱۹۷۷).

تعیین شدت آلودگی در باغات

شدت آلودگی به آتشک در باغات ذکر شده به صورت زیر درجه بندی شدند (اشتاین برگ و همکاران ۲۰۰۳).

۱= آلودگی دستجات گل، ۲= آلودگی شاخه های چند ساله کمتر یا مساوی ۱۰ سانتی متر، ۳= آلودگی شاخه های چند ساله ۱۰ تا ۳۰ سانتی متر، ۴= آلودگی شاخه های چند ساله بیش از ۳۰ سانتی متر، ۵= آلودگی شاخه های چند ساله همراه باشانکر، ۶= ایجاد شانکر روی تنه اصلی.

آمین دی هیدروکلراید صورت گرفت. تولید رنگدانه فلورسنت در محیط King's B، رشد در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد و رشد در محیط YDC، تولید لوان در محیط غنی از سوکروز و هیدرولیز ژلاتین، اسکولین و کازئین و نیز آزمون های کاتالاز، اوره آز، تولید گاز  $SH_2$  از سیستئین، تولید ایندول، تولید مواد احیاء کننده از ساکارز، احیای نیترات، تولید اوره آز، رشد در  $NaCl$  ۳٪ (وزن به حجم) و آزمون تولید مواد احیاء کننده از سوکروز به روش شاد (۱۹۸۸) انجام شد. آزمون MR-VP به روش دای (۱۹۷۸) انجام شد. در آزمون های استفاده از اسیدهای آمینه و آلی و تولید اسید از قندهای مختلف از محیط پایه آیر (Ayer) و غلظت ۰/۲-۰/۳ درصد هر قند یا اسید آمینه مورد نظر استفاده شد (شاد ۱۹۸۸). منابع کربنی با استفاده از روش تندال (Tyndalization) سترون شده و به محیط پایه اضافه شد و نتایج تا ۱۵ روز به صورت روزانه ارزیابی گردید (فهی و هایوارد ۱۹۸۳).

تعیین جمعیت اپیفیتی باکتری بر روی گل های درختان میوه دانه دار

در بهار سال های ۱۳۸۶ و ۱۳۸۷، نمونه های گل از درختان سیب، گلابی و به در دو باغ با سابقه آلودگی قبلی واقع در مناطق بسطام و مجن جمع آوری و پس از انتقال به آزمایشگاه، تعداد ۲۰ گل از هر درخت در ۲۰۰ میلی لیتر آب مقطر استریل در ارلن ۳۰۰ میلی لیتری بدون ضد عفونی سطحی قرار داده و مدت نیم ساعت در دمای آزمایشگاه با دستگاه شیکر مخلوط شدند. سپس مقدار ۱۰۰ میکرو لیتر از محلول حاصله روی محیط NAS کشت و در دمای  $25 \pm 2$  درجه سانتی گراد نگهداری و پس از ۷۲-۴۸ ساعت نسبت به شمارش کلنی های دارای رشد لوان اقدام شد (بیر و اوپگنورث ۱۹۷۶).

## نتایج

بررسی‌های انجام شده در سال ۱۳۸۶

درصد (۱۸٪) را دارا بود. شانکرهای موجود روی درختان به بالاترین درصد آلودگی (۵۴٪) را در بین درختان میوه دانه دار بخود اختصاص داد.

## نقش اندامهای آلوده در بقاء عامل بیماری

وضعیت آلودگی در فصل بهار قبل از گلدهی سال ۱۳۸۶ نشان داد از شاخه‌های یک، دو و سه ساله درختان میوه دانه دار آلوده، باکتری بیماریزا در فروردین ماه جداسازی گردید و عامل بیماری توان ماندگاری در تمامی سرشاخه‌ها با قطر بیش از دو میلیمتر را داشت. همچنین از برگها و میوه گلابی و به باقی مانده از سال قبل باکتری قابل رشد جدا سازی شد. ضمناً در برگ و میوه سیب آلوده از سال قبل و از شانکرهای قدیمی با عمر بیش از یک سال در گلابی و به باکتری فعال جدا سازی نشد. نمونه برداری‌های انجام شده در اسفند ماه نشان داد که فقط ۸٪ میوه‌های آلوده باقی مانده روی درختان گلابی حاوی باکتری *E. amylovora* بوده و سایر اندام‌های درختان گلابی عاری از آلودگی بودند. اندام‌های مختلف درختان سیب حاوی باکتری فعال نبوده در حالی که ۲۰٪ گل‌های آلوده باقی مانده، ۲۰٪ میوه، ۱۴٪ برگ‌ها و ۱۷٪ شانکرهای موجود روی درختان به در بقاء باکتری عامل بیماری نقش داشتند (جدول ۲).

## بررسیهای انجام شده در سال ۱۳۸۷

در بررسی‌های انجام شده در سال دوم آلودگی گل‌های درختان سیب، گلابی و به بترتیب ۸، ۸ و ۱۴٪ و جمعیت اپیفیتی باکتری روی گل‌های درختان به بین  $10^2 \times 0.2 - 10^3 \times 0.3$  واحد تشکیل دهنده کلنی در گل در منطقه بسطام تعیین گردید. در مورد جمعیت باکتری روی گل‌های سیب و گلابی تعداد کلنیهای *E. amylovora* بسیار کم و در حدود ۲-۱ کلنی در ۱۰۰ میکرو لیتر بود و به عبارتی جمعیت باکتری ۵-۲ سلول در هر گل تعیین شد. در بررسی آلودگی اندامهای مختلف درختان میوه دانه دار در طول دوره رشد، حداکثر آلودگی

از ۲۲۰ نمونه گل، برگ، شانکر و میوه دارای علائم بیماری، ۱۰۲ استرین باکتری جداسازی شدند. در آزمونهای فنوتیپی شباهت بسیار بالایی بین استرین‌ها مشاهده شد. جدایه‌های مورد بررسی گرم منفی، بی‌هوازی اختیاری و لوآن مثبت بوده، توانایی ایجاد واکنش فوق حساسیت در توتون و تولید تراوش باکتریایی در میوه گلابی را داشتند و در محیط King's B رنگیزه فلورسنت تولید نمودند که به عنوان گونه *E. amylovora* شناسایی شدند. نتایج سایر آزمونها در جدول ۱ آورده شده است.

## آزمون بیماری زایی

مایه زنی میوه‌های نارس و شاخه‌های بریده گلابی با باکتری *E. amylovora* منجر به تولید لکه‌های آبسوخته پس از ۵-۴ روز در اطراف محل‌های زخم شده گردید که با گذشت زمان لکه‌ها گسترش یافته و بهم پیوستند. تراوشات باکتریایی روی سطح میوه و سرشاخه‌ها از بارزترین مشخصه بیماری‌زایی باکتری مزبور بود.

## تعیین جمعیت اپیفیتی باکتری بر روی گل‌های درختان میوه دانه دار

در مجموع ۳۰ نمونه ۲۰ تایی گل از درختان سیب، به و گلابی مربوط به دو باغ واقع در منطقه بسطام در سال ۱۳۸۶ جمع‌آوری شدند. در طول مرحله گلدهی درختان میوه دانه دار، میانگین تعداد  $10^0 - 10^4 \times 0.4$  واحد تشکیل دهنده کلنی در میلی لیتر باکتری با مشخصات *E. amylovora* در هر گل سیب،  $10^6 - 10^7 \times 0.6$  واحد در هر گل گلابی و  $10^7 \times 10^7 - 10^6 \times 3$  واحد در هر گل به روی محیط کشت رشد نمود. نتایج نمونه برداری‌های انجام شده در طول فصل رشد نشان داد که در گلابی، ۱۹٪ گل‌ها، ۱۰٪ میوه‌ها، ۳۵٪ برگ‌ها و ۲۱٪ شانکرها آلوده بودند (جدول ۲). در درختان سیب، برگ بالاترین درصد آلودگی (۵۳٪) و گل کمترین

مربوط به شانکرهای موجود روی درختان گلابی با میزان ۲۹٪ بوده و کمترین میزان آلودگی (۷٪) به میوه ها اختصاص داشت. حداقل آلودگی در درختان سیب مربوط به شانکرهای موجود روی شاخه های جوان و

جدول ۱- خصوصیات فنوتیپی استرین های *E. amylovora* براساس آزمونهای فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مورفولوژیکی.

واکنش	نوع آزمون	واکنش	نوع آزمون
-	استفاده از منابع کربنی	-	واکنش گرم (پتاس ۳٪)
-	سیترات	+	تحرك
-	دکستروز	+	رشد هوازی/بی هوازی
+	گلیسرول	-	تولید رنگدانه فلوروسنت
-	دولسیتول	-	اکسیداز
-	اینولین	-	تولید رنگدانه صورتی روی محیط YDC
-	لاکتوز	-	تولید رنگدانه آبی روی محیط YDC
-	مالتوز	-	تولید مواد احیا کننده از ساکارز
+	دی مانیتول	-	لستیناز
-	دی مانوز	+	تولید ایندول
-	ملی زیتوز	-	اوره آز
-	ملی بیوز	-	هیدرولیز ژلاتین
+	دی سوربیتول	-	هیدرولیز کازئین
+	دی گالاکتوز	+	هیدرولیز اسکولین
+	دی گلوکز	-	هیدرولیز توئین ۸۰
+	ریبوز	+	هیدرولیز نشاسته
+	ساکارز	-	
+	تری هالوز	-	
-	دی آرابینوز		
+	فروکتوز		

- واکنش منفی، عدم وجود فعالیت و یا عدم استفاده از ترکیبات.  
+ واکنش مثبت، وجود فعالیت و یا استفاده از ترکیبات.

جدول ۲- درصد آلودگی اندامهای مختلف درختان میوه دانه دار به باکتری *E. amylovora* در طول سال ۱۳۸۶.

میزبان	گل	برگ	میوه	شانکر
گلابی	۱۹	۳۵	۱۰	۲۱
سیب	۱۸	۵۳	۲۱	۲۸
به	۳۷/۵	۱۴	۵۳	۵۴

دارای بیشترین (۵۰٪) و کمترین درصد آلودگی (۳۳٪) بودند.

اصلی (۹٪) و بالاترین آن مربوط به گل و برگهای درختان آلوده به میزان ۲۵٪ بود. اندامهای مختلف درختان به بطور کلی از بالاترین میزان آلودگی برخوردار بوده و شانکرها و برگهای موجود به ترتیب

درصد آلودگی در درختان گلابی نیز به بالای ۵۵٪ می رسید و از نظر شدت آلودگی درجات مختلفی از دو تا شش را نشان داد. در درختان سیب شدت آلودگی با درجات مختلفی از یک تا سه و ۲۴٪ آلودگی مشاهده شد (جدول ۳).

جدول ۳- درصد آلودگی اندامهای مختلف درختان میوه دانه دار به باکتری *E. amylovora* در طول دوره رشد در سال ۱۳۸۷.

میزبان	گل	برگ	میوه	شانکر
گلابی	۸	۱۸	۷	۲۹
سیب	۸	۲۵	۱۸	۹
به	۱۴	۳۳	۳۵	۵۰

مشخص گردید، جمعیت باکتری عامل بیماری روی گل های درختان میوه دانه دار بسته به شرایط اقلیمی و نوع میزبان متفاوت بوده بطوریکه در سال ۱۳۸۶ باکتری عامل بیماری از ۱۰۰٪ گل های گلابی، ۷۵٪ گل های به و ۷۰٪ گل های سیب جداسازی شد که دارای زندگی اپیفیتی قبل از ظهور علائم بودند. زندگی اپیفیتی باکتری با جمعیتی نسبتاً بالا موجب بلایت شکوفه در درختان میوه دانه دار گردید به طوریکه در درختان گلابی و به پس از بلایت شکوفه، بلایت شاخه های جوان را نیز به دنبال داشت ولی خسارت در اکثر باغات سیب محدود به دستجات گل ها می شد. در سال ۱۳۸۷ جمعیت اپیفیتی باکتری در سطح گل های درختان میوه دانه دار در طول مرحله گلدهی بسیار اندک بود به طوریکه علائم سوختگی شکوفه در اکثر باغات مشاهده نشد. با توجه به شکل های ۲ و ۳ می توان به نقش عوامل محیطی از جمله یخبندان های طولانی مدت در طی ماه های دی و بهمن ۱۳۸۶ و پایین بودن میزان بارندگی در طی ماه های اسفند و فروردین ۱۳۸۷ در کاهش میزان جمعیت اپیفیتی باکتری *E. amylovora* در مرحله گلدهی و کاهش شدت آلودگی در درختان میوه اشاره نمود (شکل های ۱ و ۲).

بررسی زندگی اپی فیتی باکتری *E. amylovora* روی گل های سایر درختان میوه

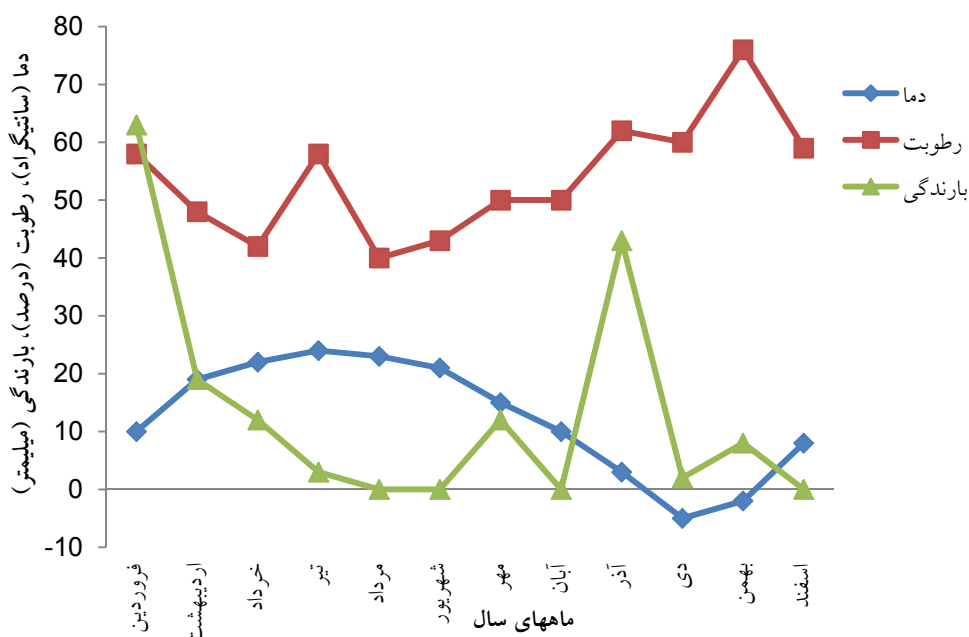
باکتری *E. amylovora* از گل و برگ درختان آلو، زردآلو و گیلاس، هلو و شلیل جداسازی نشد.

تعیین شدت آلودگی در باغات

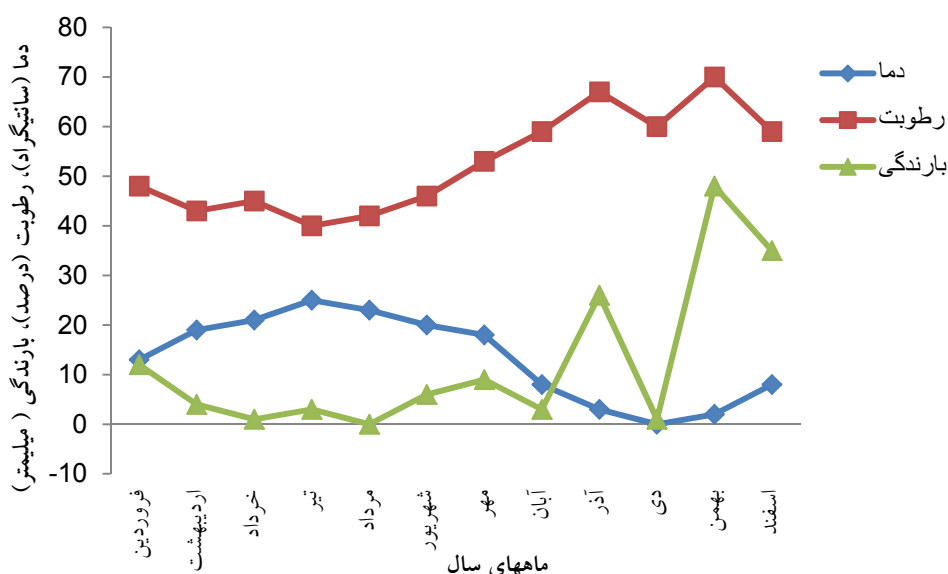
میزان آلودگی در باغ به، صد درصد بود و از نظر شدت و میزان آلودگی نیز با درجه ۶ و ۸۸٪ تعیین شد.

## بحث

علائم بیماری، ویژگی های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی استرین های جدا شده از نمونه های آلوده و ایجاد علائم در آزمون بیماری زایی همگی دلالت بر تأیید وجود بیماری آتشک در استان سمنان با عامل *E. amylovora* دارد. این بیماری به لحاظ شرایط آب و هوایی مطلوب سال ۸۶ که توام با بارندگیهای ممتد و مستمر بهاره بود توانست در برخی از باغات خسارتهای قابل توجهی را به وجود آورد. به طوریکه در طول این دو سال بررسی ۹۰٪ درختان به (رقم نطنز اصفهانی) مربوط به دو باغ واقع در منطقه زیراستاق و یک باغ واقع در روستای قلعه نو خالصه با شدت آلودگی بالا و وجود شانکر روی شاخه و تنه اصلی درختان منهدم گردیدند. در بین درختان میوه دانه دار بالاترین شدت و درصد آلودگی به ترتیب مربوط به درختان به (۸۸٪)، گلابی (۵۵٪) و سیب (۲۴٪) تعیین گردید. در درختان به، بیماری کلیه اندامهای درخت را تحت تاثیر خود قرار داده و علاوه بر سوختگی اندامهای هوایی، شانکرهای وسیعی در تنه درختان نیز وجود داشت در حالیکه در درختان سیب آلودگی منحصر به دستجات گل بوده و در شاخه های یکساله شانکرهای جوان مشاهده گردید. بر اساس نتایج بدست آمده



شکل ۱- میانگین دما، رطوبت نسبی و میزان بارندگی سال ۱۳۸۶ در منطقه.



شکل ۲- میانگین دما، رطوبت نسبی و میزان بارندگی سال ۱۳۸۷ در منطقه.

احتمال وقوع بیماری را افزایش می دهد. در کشورهای اروپایی تحت شرایط خشک و رطوبت نسبی ۲۰ تا ۶۰٪ جمعیت باکتری با استفاده از رطوبت موجود در سطح کلاله به میزان  $10^7-10^3$  واحد تشکیل دهنده کلنی در گل می رسد در حالی که بقیه قسمت های گل دارای جمعیت بسیار کم و یا فاقد باکتری عامل بیماری می باشند. فراری و همکاران (۱۹۸۱) گزارش نمودند که وجود

تامسون (۱۹۸۶) در تحقیقی به این نتیجه رسید که جمعیت  $10^7-10^3$  واحد تشکیل دهنده کلنی باکتری در سطح گل های درختان گلابی به ندرت و فقط در صورت بالا بودن رطوبت نسبی بالا موجب بیماری می شود. در حالی که نتایج بیر و نورلی (۱۹۷۷) در تضاد با یافته تامسون (۱۹۸۶) می باشد که گزارش نمودند تعداد  $10^7-10^6$  واحد سطح گل های گلابی

ناپایدار روی برگ ها نام برده شده است که تنها برای چند ساعت قادر است در مقابل اشعه خورشید زنده بماند (ونسته ۲۰۰۰). در این تحقیق مشخص گردید باکتری عامل بیماری بعد از وقوع بیماری روی میوه و برگ های درختان به، سیب و گلابی در طول دوره رشد گیاه بصورت اندوفیت وجود داشته و در زمستانگذرانی عامل بیماری نیز نقش داشتند. مطابق جدول ۴ برگ و میوه درختان به بالاترین درصد آلودگی را در زمستان بخود اختصاص دادند. مک منوس و جونز (۱۹۹۵) با استفاده از روش PCR نشان دادند ۱۰۰٪ برگ های سیب دارای باکتری عامل بیماری با جمعیت پائین بودند. علیرغم گزارشات متعددی مبنی بر زمستانگذرانی باکتری عامل بیماری در میوه های آلوده و مومیایی شده، هنوز نقش آن ها در انتشار بیماری آتشک به عنوان منبع آلودگی جدید در باغ های درختان میوه دانه دار به اثبات نرسیده است (ونسته ۲۰۰۰).

بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق درصد شانکرهای حاوی باکتری فعال عامل بیماری بر روی میزبان های درختان میوه دانه دار در سالهای ۸۷-۱۳۸۶ و تحت تاثیر شرایط آب و هوایی بخصوص سرمای زمستان ۸۶ متفاوت بوده است. با توجه به جدول ۴ درختان به در طول دو سال بررسی دارای شانکرهای حاوی باکتری فعال بوده و بالاترین درصد میانگین آلودگی دو سال را در بین درختان میوه دانه دار بخود اختصاص داد. از طرف دیگر در سال ۱۳۸۶ شانکرهای درختان گلابی و سیب نقشی در بقاء عامل بیماری نداشته و درصد شانکرهای آلوده به باکتری نیز در مقایسه با سال ۸۷ کاهش داشت. در طول این مطالعه ترشح اوز و وجود باکتری عامل بیماری بصورت اپیفیت در سطح شانکرهای تنه و شاخه های اصلی قابل جداسازی نبوده ولی در موارد بسیار معدودی تولید اوز روی شاخه های جوان سیب و گلابی در فصل بهار مشاهده شد.

موادی نظیر اسیدهای آمینه، گلیکو پروتئین، کربوهیدرات ها و مولکول های آبدوست با وزن مولکولی پائین رطوبت موردنیاز جوانه زنی دانه گرده را در ناحیه کلاله تامین میکند و در عین حال نیز شرایط مناسب را برای رشد باکتری فراهم می نماید. از طرفی تحقیقات نشان داده است گل های گلابی تا دو روز پس از باز شدن به بیماری حساس بوده و پس از آن به شدت حساسیت گل ها به بیماری کاهش می یابد. همچنین به این موضوع اشاره شده است که باکتری *E. amylovora* در کلاله گل های ۵-۴ روزه سیب رقم رویال گالا قادر به رشد نمی باشد و در واقع ۳-۲ روز پس از باز شدن گل های سیب تغییراتی در اثر اعمال گرده افشانی، جوانه زنی دانه گرده و لقاح در ناحیه کلاله بوجود آمده که احتمالاً با تولید ترکیبات بازدارنده مانع از کلینیزه شدن کلاله توسط باکتری عامل بیماری می گردد (ونسته ۲۰۰۰). شروس و همکاران (۱۹۷۴) شانکرهای موجود روی درختان میوه دانه دار را به عنوان منبع تولید زادمایه اولیه بیماری گزارش نمودند. در تحقیق حاضر نیز به نظر می رسد یخبندان طولانی مدت ماه های دی و بهمن ۱۳۸۶ (۵/۲- تا ۵/۱۶ - درجه سانتی گراد) و پایین بودن میزان بارندگی در طی ماه های اسفند ۱۳۸۶ و فروردین و اردیبهشت سال ۱۳۸۷ نقش مهمی در جلوگیری از فعالیت باکتری عامل بیماری در محل شانکرها (جدول ۳) و در نتیجه کاهش جمعیت اپیفیتی باکتری در سطح گل ها و کاهش بلایت شکوفه در بهار سال ۸۷ داشته است. دیگر تحقیقات نیز بیانگر آن است که در صورتی که باکتری عامل بیماری تا قبل از گلدهی از شانکرها منتشر نشود، آلودگی قابل توجهی روی گل ها ایجاد نمی شود. در واقع با روشن شدن ارتباط بین فیزیولوژی میزبان، فعالیت پاتوژن و شرایط محیطی می توان زمان تولید زادمایه اولیه و شدت و توسعه بیماری آتشک را پیش بینی کرد. از باکتری *E. amylovora* به عنوان یک باکتری اپیفیت



جدول ۴- درصد آلودگی اندامهای زمستان‌گذران درختان میوه دانه‌دار به باکتری *E. amylovora* در طول سالهای ۱۳۸۷-۱۳۸۶.

سال / میزبان	گل	برگ	میوه	شانکر
سال	۸۶	۸۷	۸۶	۸۷
گلابی	۰	۰	۷/۵	۱۸
سیب	۰	۰	۰	۷
په	۲۰	۱۴	۲۰	۲۶

در آلودگی سال بعد داشتند و نکته مهم در مدیریت بیماری این است که علاوه بر حذف اندام های آلوده اگر در زمان شکوفه دهی شانکرهای تنه و ساقه اصلی نیز مدیریت شده و از انتقال بیماری به گلهای جلوگیری شود قسمت عمده ای از آلودگی باغ کنترل می گردد. وضعیت فعلی انتشار بیماری در بیشتر مناطق استان حاکی از گسترش محدود بیماری در باغهای سیب در مقایسه با درختان به و گلابی است. از طرف دیگر با توجه به شرایط اقلیمی خشک استان و حساسیت باکتری *E. amylovora* به نور ماورای بنفش و سرمای شدید و زمستان طولانی در بعضی سالها، می توان با رعایت ضوابط کامل قرنطینه، کاشت نهالهای گواهی شده، هرس و معدوم نمودن به موقع بقایای آلوده، سمپاشی درختان آلوده در زمستان و در مراحل گلدهی با ترکیبات مسی با توجه به شرایط آب و هوایی استان باغهای میوه دانه دار را از خسارت شدید بیماری آتشک محافظت نمود.

تحقیقات سایر محققان نیز موید این مطلب است که تعداد واقعی شانکرهایی که در طول مرحله گلدهی اوز ترشح میکنند خیلی کمتر از شانکرهای حاوی باکتری فعال می باشد (ونسته ۲۰۰۰). بیر و اوپگنورت (۱۹۷۶) دمای بالاتر از ۱۷ درجه سانتی‌گراد و بارندگی را در شروع فعالیت شانکرها موثر دانستند در حالی که بروکز (۱۹۲۶) هوای نسبتاً گرم تر (۲۹/۵-۱۸/۳ درجه سانتی‌گراد) و رطوبت نسبی ۸۰٪ را برای ترشح اوز از شانکرها موثر دانست. پاول (۱۹۶۵) نیز طبق مشاهداتش به این نتیجه رسید که بلایت شکوفه اتفاق نمی‌افتد مگر اینکه تجمع ۳۰ درجه- روز بالای ۱۸/۴ درجه سانتی‌گراد بین آخرین یخبندان و شروع گلدهی جهت فعالیت باکتری در محل شانکرها فراهم گردد.

نتیجه کلی این تحقیق نشان داد که اندام های مختلف گیاه میزبان توان نگهداری باکتری را تا فصل بعد داشته و می توانند به عنوان عوامل زمستان گذران بیماری اطلاق شوند، از طرفی شانکرهای روی تنه و شاخه های اصلی با آلودگی یک ساله بیشترین سهم را

## منابع

- افیونیان م، محمدی م و رحیمیان ح، ۱۳۷۹. خصوصیات فنوتیپی استرینهای ایرانی *Erwinia amylovora* عامل باکتریایی بیماری آتشک سیب، گلابی و به. مجله علوم کشاورزی ایران، جلد ۳۱، شماره ۳. صفحه های ۴۶۳-۴۶۷.
- امیدوار ر، شمس بخش م و رحیمیان ح، ۱۳۸۵. تعیین خصوصیات استرین های ایرانی *Erwinia amylovora* با استفاده از آزمون های بیوشیمیایی و RAPD. مجله بیماریهای گیاهی، جلد ۴۲، شماره ۴. صفحه های ۶۷۳-۶۸۶.
- ذاکری ز و شریف نبی ب، ۱۳۷۰. بیماری آتشک گلابی در کرج. خلاصه مقالات دهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. کرمان. صفحه ۱۵۷.
- مزارعی م، ذاکری ز و حسن زاده ن، ۱۳۷۳. وضعیت بیماری آتشک روی درختان میوه در استان آذربایجان غربی و

قزوین در سالهای ۱۳۷۱ تا ۱۳۷۲. مجله بیماریهای گیاهی، جلد ۳۰، شماره‌های ۴ - ۱ صفحه های ۲۵ تا ۳۲.

- Beer SV and Norelli JL, 1977. Fire blight epidemiology: factors affecting release of *Erwinia amylovora* by cankers. *Phytopathology* 67 :1119-1125.
- Beer SV and Opgenorth DC, 1976. *Erwinia amylovora* on fire blight canker surfaces and blossoms, in relation to disease occurrence. *Physiopathology* 66: 317-322.
- Brooks AN, 1926. Studies of the epidemiology and control of fire blight of apple. *Phytopathology* 16: 665-696.
- Dye DW, 1978. A taxonomic study of genus *Erwinia*. I. the *Amylovora* group. *Journal of microbiology* 12: 81-97.
- Fahy PC and Hayward AC, 1983. Media and methods for isolation and diagnostic tests. Pp. 337-378. In: Fahy PC and Persley GJ (eds.). *Plant Bacterial Disease, A Diagnostic Guide*. Academic Press. Australia.
- Hugh R and Leifson E, 1953. The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various gram negative bacteria. *Journal of Bacteriology* 66 (1): 24-26.
- Klement Z, Farkas GL and Lovrekovich L, 1964. Hypersensitive reaction induced by phytopathogenic bacteria in the tobacco leaf. *Phytopathology* 54: 474-477.
- Lelliott RA and Stead DE, 1987. *Methods for the Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants*. Black well Scientific Publications. Oxford. 216 pp.
- McManus PS and Jones AL, 1995. Genetic fingerprinting of *Erwinia amylovora* strains isolated from tree fruit crops and *Rubus* spp. *Phytopathology* 85: 1547- 1553.
- Misaghi I and Grogan RG, 1969. Nutritional and biochemical comparisons of plant pathogenic and saprophytic fluorescent *Pseudomonas*. *Phytopathology* 59:1436-1450.
- Ordax M, Marco-Noales E, Lopez MM and Biosca EG, 2006. Copper induces a viable but nonculturable (VBNC) state in *Erwinia amylovora*. *Acta Horturae* 704: 205-210.
- Powell D, 1965. Factors influencing the severity of fire blight infections on apple and pear. Michigan State Horticultural Society. Annual Meeting 94: 1-7.
- Schaad NW, 1988. *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. 2<sup>nd</sup> ed. APS Press. USA. 158 pp.
- Schroth MN, Thomsan SV, Hildebraund DC and Moller WJ, 1974. Epidemiology and control of fire blight. *Annual Review of Phytopathology* 12: 389-412.
- Shteinberg D, Ziberstaine M, Oppenheim D, Levi S, Shwartz H and Kritzman G, 2003. New considerations for pruning in management of fire blight in pears. *Plant Disease* 87: 1083-1088.
- Suslow TV, Schroth MN and Isaka M, 1982. Application of a rapid method for gram differentiation of plant pathogenic and saprophytic bacteria without staining. *Phytopathology* 72: 917-918.
- Taylor RK, Hale CN and Marshall JW, 2002. The viability and persistence of *Erwinia amylovora*. *Acta Horturae* 590: 153-155.
- Thornley MJ, 1960. The differentiation of *Pseudomonas* from other Gram negative bacteria on the basis of arginine metabolism. *Journal of Applied Bacteriology* 13: 37-52.
- Thomson SV, 1986. The role of the stigma in fire blight infections. *Phytopathology* 76 : 476-482.

- Thomson SV, Schroth MN, Moller WJ and Reil WO, 1982. A forecasting model for fire blight of pear. *Plant Disease* 66: 576-579.
- Van der Zwet T, 2006. Present world wide distribution of fire blight and closely related diseases. *Acta Horturae* 704: 35-36.
- Vanneste JL, 2000. Fire Blight: The Disease and its Causative Agent, *Erwinia amylovora*. CABI Publishing. 388 pp.

## Role of Infected Plant Parts in Development and Survival of Fire Blight of Pome Fruits (*Erwinia amylovora*)

F Ommati<sup>1</sup> and M Zaker<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Researchers, Department of Plant Protection, Shahrood Agricultural Research Center.

\*Corresponding author: masoudzaker35@gmail.com

Received: 15 Oct 2013

Accepted: 5 Jul 2014

### Abstract

In order to evaluate the role of infected host parts, cankers, etc. in dispersion and survival of fire blight of pome fruits, thirteen fruit gardens throughout Semnan province were inspected during 2007-2008. Infected plant parts were collected from different localities and the causal agent was isolated from different samples using SNA (sucrose nutrient agar) medium following standard methods. Results indicated that epiphytic population of bacteria at a range of  $3 \times 10^3 - 10^6$  cfu/flower in pear and  $3 \times 10^6 - 1.7 \times 10^7$  cfu/flower in quince caused blossom blight during rainy days with moderate temperature. It was found that except apple trees of Tash region, pome fruits of remaining regions were infected with the disease. Higher disease incidence occurred in quince (88%), pear (55%) and apple (24%) respectively. It was also found that the role of different plant parts in maintenance of fire blight was directed by weather in such a way that total plant parts of quince and specially their cankers caused highest disease incidence. It was found that the disease can be transmitted to the next year by different infected plant parts of pome fruit trees while one year old cankers of trunks and main branches had the most important role in this connection.

**Keywords:** Fire blight, Infected plant parts, Pome fruits, Survival, Semnan province.