

# وضعیت بیماری باکتریائی آتشک روی درختان میوه در منطقه کرج ۱۳۶۸-۱۳۷۴

زهرا ذاکری و بهرام شریف نبی

به ترتیب کارشناس دانشکده کشاورزی - دانشگاه تهران

و مربی دانشگاه صنعتی اصفهان

تاریخ پذیرش مقاله، سیزدهم دی ماه ۱۳۷۴

## خلاصه

بیماری باکتریائی آتشک اولین بار در ایران بر روی گلابی از منطقه برغان کرج توسط نگارندگان گزارش شد. به دنبال آن بیماری روی سایر میزبانها در قزوین و در استان آذربایجان غربی نیز مشاهده گردیده است. در سال ۱۳۷۳ آلودگیهای پراکنده و نسبتاً خسارت بار در باغهای کرج روی به، گلابی و سیب بوجود آمد. حساسترین ارقام به ترتیب به، گلابی های پیوند شده بر روی به، گلابی، سیب زرد لبنانی و قرمز لبنانی می باشد. براساس علائم بیماری و خصوصیات بیوشیمیایی و بیماریزائی ۳۴ ایزوله جدا شده از کرج، وجود بیماری آتشک در اثر باکتری *Erwinia amylovora* اثبات گردید.

## مقدمه

بیماری آتشک<sup>۱</sup> که توسط باکتری اروینیا آمیلوورا<sup>۲</sup> ایجاد می شود از مهمترین بیماریهای باکتریایی گیاهان تیره گلسترخیان<sup>۳</sup> می باشد که علاوه بر گلابی، به و سیب، ۱۲۹ گونه از ۳۷ جنس تیره گلسترخیان را مورد حمله قرار می دهد (۹). بیماری برای اولین بار در دنیا توسط بوریل<sup>۴</sup> در سال ۱۸۸۲ از درختان گلابی آمریکا گزارش گردید. این بیماری از میزبانهای مختلف در بسیاری از نقاط دنیا از جمله کشورهای هند، چین، کره، ترکیه، شوروی سابق و ویتنام گزارش گردیده و گزارشات مشکوکی نیز از لبنان و عربستان سعودی ارائه شده است (۱).

در ایران بیماری آتشک برای اولین بار از برغان کرج گزارش گردید (۱۱). سپس بیماری در باغهای حومه قزوین، سلماس خوی و ارومیه نیز مشاهده شده است (۶). در کرج اولین علائم شامل پژمردگی گلبرگها، سیاه شدن دمگل و میوه های نارس و تراوش صمغ شیری رنگ باکتری است.

در حال حاضر تمام مناطق کرج آلودگی را با شدت و ضعف

نشان داده و احتمال وقوع یک اپیدمی شدید می رود. در این مطالعه، وضعیت آلودگی و پراکنش بیماری بر روی میزبانهای مختلف در منطقه کرج گزارش می شود.

## مواد و روشها

۱ - جمع آوری و جداسازی باکتری

در طی سالهای ۷۳-۶۸ نمونه های متعددی از گلها، سرشاخه های جوان و بزگهای سیب، به، گلابی و نیز ترشحات باکتریائی سرشاخه های میزبان از باغهای اطراف کرج جمع آوری گردید. نمونه ها پس از شستشو با آب، بوسیله محلول سوبلیمه یک در هزار ضد عفونی و مجدداً با آب مقطر شستشو شدند. سپس نمونه ها به قطعات کوچکتر تقسیم شده و از هر نمونه قطعاتی به پتری دیش حاوی آب پیتونه (۵ در هزار) منتقل و به کمک اسکالپل له گردید. پس از ده دقیقه به کمک لوپ از هر سوسپانسیون روی محیط آگار

غذایی<sup>۱</sup> کشت داده شد و نمونه ها در ۲۵ درجه سانتیگراد قرار گرفت . پس از ۷۲-۴۸ ساعت تک کلنیها انتخاب و خالص شدند.

در نتیجه ۳۴ ایزوله از برغان - شهریار - محمد آباد و مرد آباد از روی میزبانهای به ، گلابی و سیب جدا سازی گردید.

## ۲ - شناسائی باکتری

آزمونهای مختلف بیوشیمیایی ، فیزیولوژیکی و بیماریزائی روی تمامی ایزوله های باکتریائی پس از خالص سازی انجام و استرینهای مختلف به کمک روشهای استاندارد شناسائی شدند (۲).

پس از رنگ آمیزی گرم به روش استاندارد (۷) و حلالیت در KOH (۸) و رنگ آمیزی تاژک به روش رودز<sup>۲</sup> انجام گرفت (۷).

## ۳ - آزمون بیماریزائی

بیماریزائی ایزوله ها روی میوه های نارس گلابی با قطر حدود ۲ سانتیمتر در شرایط آزمایشگاهی انجام شد. ابتدا میوه بخوبی شسته شده و قطعات کوچکی از آنها جدا گردید. از سوسپانسیون باکتری که از کشت ۷۲ ساعته و با غلظت تقریبی  $10^8$  سلول در میلی لیتر آب مقطر تهیه شده بود یک لوپ در قسمت بریده شده قرار داده شد. محل زخم توسط نوارهای پارافیلیم پوشانده شده و میوه ها برای سه روز در دمای حدود ۱۶ درجه سانتیگراد در دسیکاتور محتوی آب مقطر استریل نگهداری شدند (۷). تولید شیرابه باکتریائی روی قسمتهای زخم شده و سایر قسمتها بصورت قطرات ریز و درشت واکنش مثبت تلقی شد. شاهد با یک لوپ آب مقطر استریل مایه زنی شد. آزمون فوق حساسیت (HR) نیز با تزریق سوسپانسیون باکتری ، به غلظت  $10^8$  سلول در میلی لیتر، به برگهای توتون و شمعدانی انجام گرفت (۷ و ۹).

## نتایج

### ۱ - علائم بیماری

اولین علائم بیماری ۲-۳ هفته پس از باز شدن گلها ظاهر می شود. در شرایط آلودگی طبیعی گلها آسوخته و سریعاً "چروکیده و قهوه ای مایل به سیاه می شوند. بیماری از طریق دمگل به شاخه های جوان گسترش می یابد و حالت عصائی به سرشاخه ها می دهد. برگها نیز از این طریق مبتلا و قهوه ای مایل به سیاه شده و می میرند. میوه های نارس نیز آلوده شده و به همراه گلها و برگها بصورت خشک ، مومیائی و آویزان از سالی به سال دیگر به درخت باقی

می مانند (شکل ۱) . در شرایط مرطوب قطرات شیری رنگ و چسبناک باکتریائی در سطوح نقاط آلوده مشهود است (شکل ۲). این قطرات در سطح برگها ، دمبرگ و ساقه های پاجوشهای به ، زودتر از سایر اندامهای آلوده ظاهر می شود . تولید شانکر در زمستان نیز از دیگر علائم بارز بیماری بود. بطور کلی بیماری از سرشاخه های انتهائی شروع و بتدریج به طرف قسمتهای پائین تر درخت پیشروی می نماید.

### ۲ - جداسازی و تعیین خصوصیات عامل بیماری

کلنی های عامل بیماری باکتریائی آتشک گلابی روی محیط آگار غذایی به رنگ سفید مایل به آبی بسیار کمرنگ درخشان<sup>۳</sup>، نرم و برآمده<sup>۴</sup> با حاشیه کامل بودند. بر روی محیط کشت YDC رنگ صورتی تولید نکردند. تمامی استرینهای مورد بررسی میله ای شکل ، گرم منفی و بی هوازی اختیاری ضعیف بودند.

استرین های باکتری دارای ۸-۱ تاژک بود. سایر خصوصیات استرینهای جدا شده در جدول ۱ نشان داده شده است . از میزبانهای سیب ، به و گلابی باغهای آلوده در مناطق مختلف کرج و اطراف آن مجموعاً ۳۴ استرین جداسازی و مورد شناسائی قرار گرفت.

### ۳ - اثبات بیماریزائی

مایه زنی میوه های نارس با باکتری<sup>۵</sup> باعث تولید لکه های آسوخته ، پس از گذشت ۳-۴ روز در اطراف محل های زخم شده گردید. با توسعه لکه ها تراوشات باکتریائی (Oozing) نیز روی سطح میوه ها ظاهر گردید که از علائم بارز بیماری به حساب آمد. تمامی استرینها باعث بروز لکه های نکروزه (واکنش فوق حساسیت HR) روی برگهای توتون و شمعدانی مایه زنی شده گردیدند.

## بحث

بیماری آتشک اولین بار در سال ۱۳۶۰ در یک باغ حاشیه رودخانه منطقه برغان روی گلابی مشاهده شد تا دو سال بعد گسترشی در منطقه نیافت. تا اینکه در سال ۱۳۷۱ بیماری در منطقه قزوین بدلیل شرایط آب و هوائی خاص، مخصوصاً "بارندگیهای مستمر بصورت اپیدمی در آمد. متعاقب آن بیماری در سلماس و خوی و ارومیه نیز مشاهده گردید. در سال ۱۳۷۳ آلودگیهای پراکنده ولی نسبتاً خسارت

1- Nutrient agar

2 - Rhodes

3 - Opalescent

4 - Pulvinate

5- E.amylovora

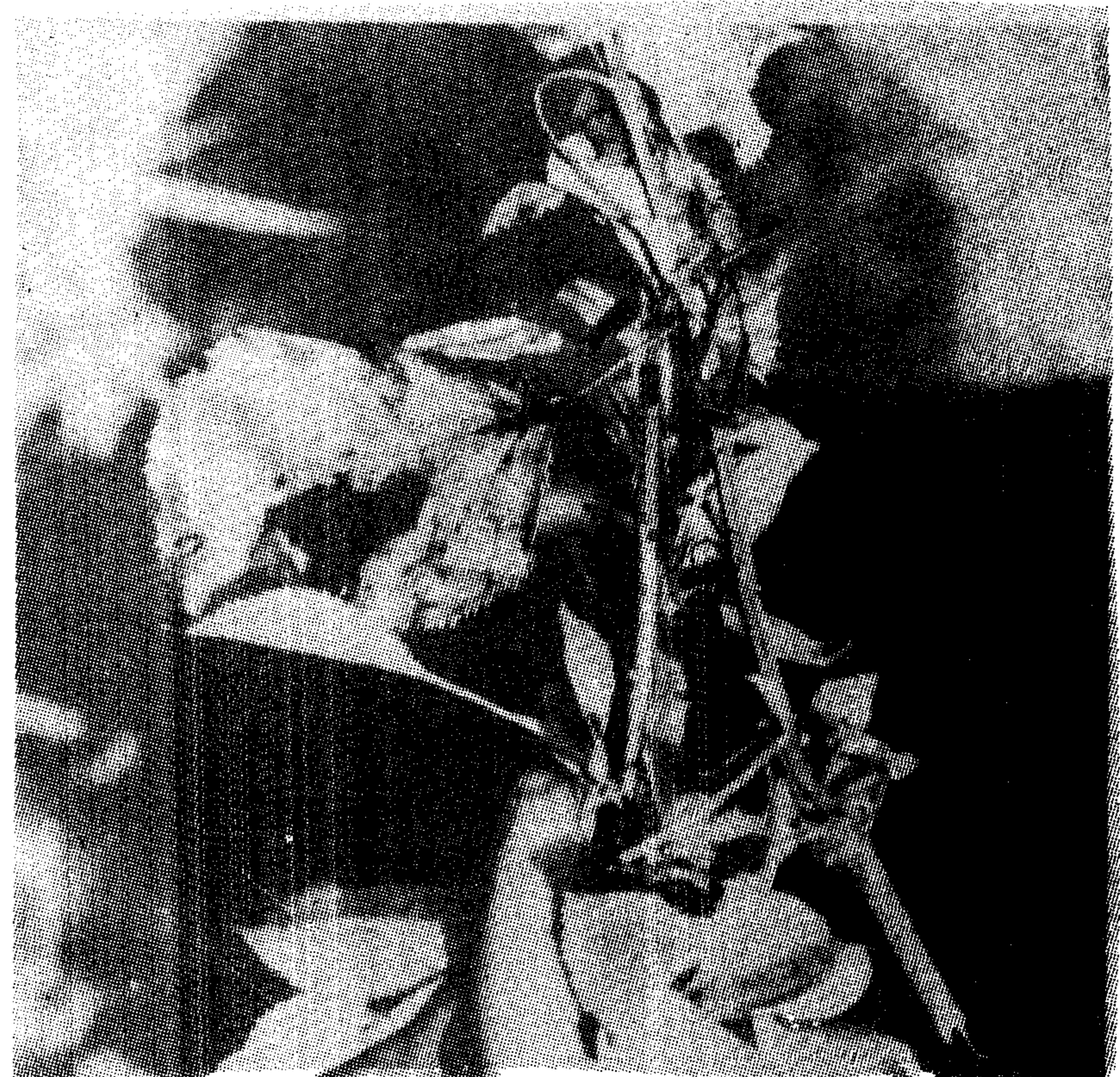
جدول ۱ - خصوصیات مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی استرین ها<sup>۱</sup>

آزمون Test	واکنش Reaction
Gram staining	Negative
Flagella	1-8 peritichous
O/F test	tacultatively anaerobic (Weak)
Oxidase	-
Catalase	+
Pink color on YDC	-
Reducing Substances from Sucrose	+
Nitrate reduction	-
Growth at 36	-
Growth on 6% Nacl	-
Potato rot	-
H <sub>2</sub> S production	-
Gelatin hydrolysis	-
Starch hydrolysis	-
Tween-80 hydrolysis	-
Arginie dihydrolase	-
Levan production	+
Urease	-
Indole production	-
Tobacco & Geranium hypersensitivty(HR)	+
Utilization of :	
Glucose	+
Fructose	+
Lactose	-
Sucrose	+
Galactose	+
Xylose	-
Rhamnose	-
Dulcitol	-
Oxalate	-
Arabinose	+
Mannitol	+
tartarate	-
Malonate	-
Inulin	-
Sorbitol	+
Acetate	+
Citrate	+
Salycilat	-
Benzoate	-
Dextrin	+
Glycerin	+



شکل ۱ - سوختگی برگها و گلها و باقی ماندن گلهای خشک بر روی شاخه های

گلابی آلوده به بیماری آتشک در ... کرج



شکل ۲ - تراوشات باکتریائی شیری رنگ و چسبناک در سطح نقاط آلوده روی

شاخه گلابی آلوده به بیماری آتشک

دارد در حالیکه در باغهایی که دارای هر سه میزبان به، سیب و گلابی هستند پیشرفت بیماری سریع و خسارت بسیار سنگین می باشد. علائم بیماری و خصوصیات باکتریولوژیک و بیماری زایی استرینهای جدا شده از نمونه های آلوده همگی وجود بیماری آتشک ناشی از *Erwinia amylovora* را در کرج اثبات می نمایند.

با توجه به وجود بیماری آتشک در کشورهای همسایه، این احتمال وجود دارد که بیماری از طریق مواد گیاهی آلوده وارد شده باشد. کنترل این بیماری مشکل و پرهزینه بوده و روشهای مبارزه در کنترل بیماری کاملاً موثر نیست. در مناطقی که بیماری گزارش نشده است استفاده از قوانین قرنطینه شدید در برابر ورود مواد گیاهی از روشهای پیشگیری موثر می باشد (۵). آزمایشهای محققین نشان داده است که یک مبارزه تلفیقی شامل رعایت بهداشت باغ، هرس، سوزاندن درختان آلوده و اندامهای هرس شده، تغذیه بهتر درخت و کنترل حشرات به همراه مبارزه شیمیایی می تواند موثر باشد.

بار در منطقه کرج مشاهده گردید و در سال های ۱۳۷۳ و ۱۳۷۴ بدلیل بارندگیهای متعدد، ممتد و مستمر بهاره مجدداً بیماری شدت زیادی پیدا کرد. و بیماری تقریباً در تمام باغهای کرج با آلودگی نسبتاً شدید مشاهده گردید، و احتمال ایجاد خسارت سنگین بعدی نیز وجود دارد. حساس ترین ارقام به ترتیب به، گلابی های پیوند شده بر روی پایه، گلابی، سیب زرد لبنانی<sup>۱</sup> و قرمز لبنانی<sup>۲</sup> می باشد.

ارقام سیب قرمز لبنانی حساسیت کمتری را نشان داده، دیرتر آلوده می شوند و پیشرفت بیماری در آنها کند می باشد. در پاجوشهای ارقام به سرعت پیشرفت بیماری بیشتر از پایه بوده و ترشحات باکتریائی<sup>۳</sup> به وفور در سطح ساقه، دمبرگ و برگها مشاهده می گردد. پسیل و زنجرها بر روی این نوع پاجوشها فعالیت قابل توجهی دارند و احتمالاً موجب آلودگیهای ثانویه و آلودگی از باغی به باغ دیگر می گردند. سرعت آلودگی و پیشرفت بیماری در باغهایی که فقط سیب و گلابی را دارند کندتر و خسارت کمتری را به همراه

#### REFERENCES

- 1 - Braudbury, J.F. 1986. Guide to plant pathogenic Bacteria. Common W. Agric. Bur. International, Slough, England. 332 pp.
- 2 - Fahy, P.C. & Persley, G.J. 1983. Plant Bacterial Diseases, A Diagnostic Guide. Academic press, Sydney.
- 3 - Lelliott, R.A. & Stead, D.E. (eds). 1987. Methods for the Diagnosis of Bacterial Diseases of plant. Blakwell Scientific Publications, Oxford 216pp.
- 4 - Hayward, A.C. & Waterston, J.M. 1965. *Erwinia amylovora*. C.M.I. Descriptions of pathogenic Fungi and Bacteria 44.C.M.I.2pp.
- 5 - Jones, A.L. & Aldwinkckle, H.S. 1990. Compendium of apple and pear Diseases. American phytopathological Society, St. Paul, MN. 100pp.
- 6 - Mazarei, M., Zakeri, Z. & Hassanzadeh, N. 1994. The status of fire blight diseases on pome fruits in west Azarbaijan and Ghazvin provinces in 1991-1992. Iran J. Plant path. 30:1-9.
- 7 - Schaad, N.W. 1988. Laboratory Guide for "Identification of plant pathogenic Bacteria", 2nd ed. American phytopathological Society St. Paul, Mn. 164 pp.
- 8 - Suslow, I.W., Schroth M.W. & Isaka, M. 1982. Application of a rapid method for gram differentiation of plant pathogenic and saprophytic bacteria without staining. phytopathology 72: 917-918.
- 9 - Vander Zwet, T. & Keil, H.L. 1979. Fire blight-A bacterial diseases of rosaceous plants. U.S. Dep. Agric. Handb. 510, 200 pp.
- 10 - Vander Zwet, T., Thomson, S.V., Covey, R.P. & Bonn, W.G. 1990. population of *Erwinia amylovora* on external and internal apple fruit tissues. plant dis. 74:711-716.
- 11 - Zakeri, Z. & Sharifnabi, B. 1991. Fire blight of pear in Karaj. proc. 10 th plant protec. Cong. Iran. Shahid Bahonar Univ., Kerman, Iran. 157 pp.

## **The Status of Fire Blight Disease on Pome Fruits In Karaj Region From 1989 to 1995**

**Z.ZAKERI AND B.SHARIFNABI**

**Technical Assistant, College of Agriculture, University of Tehran , Karaj and  
Instructors,College of Agriculture Isfahan University of  
Technology, Isfahan,Iran.**

**Accepted,3 Jan 1996**

### **SUMMARY**

Fire blight disease on pears was reported for the first time in Iran in Baraghan region of Karaj . This bacterial disease was subsequently reported on other host plant in Ghazvin and west Azarbaijan province .In 1994, Fire blight infections were spread and caused heavy losses on apple , pear and quence orchards in Karaj. Early this year (1995) , This disease has become extremely severe due to continuaus rainfalls and high moisture. Currently , fire blight disease has spread through most of the orchard farms in karaj with high severity.

The most sensitive cultivars are quience, pear trees with quience root stocks pear and golden and red delicious apples. Symptom development and bacteriological properties of 34 isolates from karaj region based on physiological , biochemecial and pathogenicity tests identified the diseased - causing agent to be *Erwinia amylovora*. Because karaj is a major fruit - hrowing region it is probable that almost all host plants sensitive to this disease will be eliminated if appropriate measures are not taken to control the spreadd of this disease. In addition , because the pathogen is spreading to a new region every year, it is possible that the disease will become epidemic through out the orchard trees of Iran in near future.