آفات و بیماریهای گیاهی
جلد ۶۶، شماره‌های ۲ و ۱، ۷۷-۱۳۷۶

انتشار جغرافیایی بیماری باکتریایی آتشک در ایران

Geographical dissemination of fireblight disease in Iran

نادر حسن‌زاده
موسسه تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی

چکیده

نتایج بررسیهای انجام شده روی ۲۹۴ مجموعه نمونه از درختان میوه آلوده یا مشکوک به بیماری آتشک که در طی مدت ۵ سال (دیماه ۱۳۷۱ لغایت شهریور ۱۳۷۶) از نقاط مختلف کشور جمع‌آوری شده بود نشان داد که این بیماری به عنوان مهمترین بیماری درختان دانه‌دار در سطح باغات کشور در حال گسترش و استقرار میباشد. کانونهای آلودگی کم و بیش محدود به باغات و برخی نهالستانهای استان تهران بویژه قزوین، شهریار، کرج و استان آذربایجان‌غربی میشود. اما در سالهای اخیر برخی نقاط استانهای زنجان، آذربایجان‌شرقی، کردستان و سمنان نیز به این بیماری آلوده شده اند*. علائم بیماری در نمونه های بررسی شده عمدتا بصورت سوختگی شکوفه، برگ، میوه، عصائی شدن سرشاخه‌ها و شانکرهای زمستانه بوده است. از میان درختان میوه دانه دار، ارقام مختلف به بدلیل حساسیت فوق العاده به باکتری *Erwinia amylovora* بیش از دیگر میزبانهای خانواده گلسرخیان در معرض زوال و انقراض بوده‌اند. استرینهای مختلف باکتری *Erwinia amylovora* جدا شده از این نمونه‌ها تفاوت قابل توجهی از نظر خصوصیات بیوشیمیائی، سرولوژیکی و نقوش الکتروفورزی نشان ندادند.

مقدمه

بیماری آتشک از جمله بیماریهای بسیار مهم و خطرناک درختان میوه دانه‌دار محسوب میگردد. عامل باکتریایی این بیماری *E. amylovora* (Burr.) Winslow *et al.*, علاوه بر حمله به میزبانهای زیادی از خانواده گلسرخیان (Rosaceous plants) مانند: سیب، گلابی، به، شیرخشت، زالزالک، پیراکانتا و غیره قادر است روی میزبانهای متعدد دیگری مانند سماق

* در آخرین روزهای انتشار این مقاله بیماری در باغی واقع در بجنورد ردیابی شد که در بررسیهای به عمل آمده در مورد نمونه‌های گلابی آن باغ، فقط در یک مورد و کلنی *E. amylovora* جداسازی شد. در بقیه موارد باکتری غالب در کشت ها *P. syringae* بود.

کوهی و گیاهان زینتی وحشی نیز زمستانگذرانی کند. این بیماری اولین بار توسط Burrill, 1878 ازآمریکاگزارش گردید و سپس در سال ۱۸۸۲ عامل بیماری توسط خود او توصیف و نامگذاری شد. سابقه بیماری در باغات دنیا خصوصا آمریکا در حقیقت به بیش از ۲۰۰ سال میرسد (Van der Zwet & Keil, 1979).

در قاره آسیا روند گسترش بیماری همچنان رو به افزایش بوده و در حال حاضر کشورهای چین، کره، ویتنام، ارمنستان، عربستان سعودی، لبنان و قبرس را شامل میشود (Bradbury, 1986).

در ایران این بیماری ابتدا در سال ۱۳۶۸ در باغی واقع در برغان کرج مشاهده و در دهمین کنگره گیاهپزشکی گزارش گردید (ذاکری و شریف نبی، ۱۳۷۰). این بیماری در سال بعد به دلیل شرایط آب و هوایی خاص (رطوبت و حرارت مناسب رشد باکتری) به حالت طغیانی در مناطق جدیدی مانند قزوین، ارومیه و سلماس بروز کرد (حسن زاده، ذاکری و مزارعی، ۱۳۷۲ و مزارعی، حسن زاده و حاجی مراد، ۱۳۷۲). با تکمیل اطلاعات مربوط به وسعت، گستردگی و میزان نسبی آلودگی باغات و نهالستانهای سطح کشور به بیماری آتشک در آزمایشگاه باکتری شناسی بخش تحقیقات بیماریهای گیاهی موسسه تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی، نگارنده بر آن شد که این اطلاعات ذیقیمت را که از هر لحاظ از جمله از نقطه نظر جغرافیایی انتشار بیماری در سطح کشور بسیار حائز اهمیت میباشد در این مقاله ارائه دهد.

روش بررسی

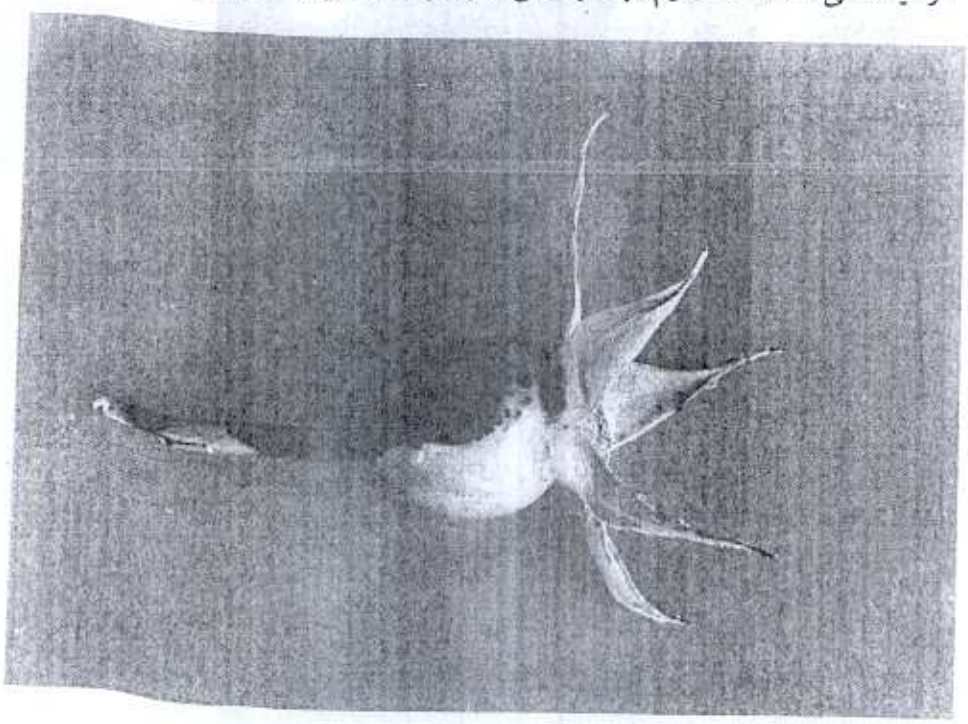
به منظور جداسازی و شناسایی عامل بیماری از اندامهای مختلف گیاهی نمونه برداریهای لازم انجام و پس از شستشو و ضدعفونی سطحی، سوسپانسیون تهیه شده از نمونه ها روی محیط کشت هایی چون NA+5%sucrose، Nutrient agar (NA) و King's medium B کشت گردیدند. پس از تک کلنی و خالص سازی ایزوله ها، جدا شده های مزبور تحت آزمونهای بیوشیمیایی قرار گرفته و ضمن مقایسه با خصوصیات بیوشیمیائی سایر باکتریهای گروه *amylovora* (Schaad, 1988) مورد شناسائی قرار گرفتند. الکتروفورز پروتئین جداشده‌های باکتریایی به روش لملی (Laemmli, 1970) انجام گرفت، بدین ترتیب که پس از تهیه سوسپانسیون باکتریها و سانتریفیوژ آنها در ۱۰۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه، پروتئین‌های غشاء سلولی با ۱٪ حلال شیمیایی سدیم دو دسیل سولفات و مرکاپتواتانول لیز و به پلی پپتیدهای خطی مبدل شدند. پس از تکمیل مرحله لیز شدن، سوسپانسیون حاوی پروتئین به مدت ۳ دقیقه در ۱۰۰°C حرارت داده شد تا چسبندگی محلولها کاهش یابد. در روش PAGE از ژل ناپیوسته پلی‌آکریل‌آمید استفاده شد و پس از اتمام مرحله راندن ژل، ژلهای مورد بررسی با محلول ۱ در هزار کومازی بلو رنگ آمیزی شدند. از طرفی آزمون سرولوژیکی به روش نشت دو طرفه و با تهیه ژل ۱٪ آگاروز در داخل پتریهای استریل انجام گرفت.

واکنش فوق
توتون ارزیابی گ
نارس گلابی و ن
آزمایشگاهی تا ،

شکل ۱- اثبات
گل سرخ
uspension into

نتیجه و بحث
در پنج سال
E. amylovora ،
شهریار، ارومیه،
۲) استرینهای ب
حسن‌زاده، ۳۷۳
مختلف کشور ن

واکنش فوق حساسیت (HR) ایزولات باتزریق سوسپانسیون مکدر باکتریایی به برگهای توتون ارزیابی گردید و در آزمونهای اثبات بیماریزایی همان سوسپانسیون مکدر به میوه‌های نارس گلابی و نهنج گل سرخ (شکل ۱) مایه زنی و اندامهای تلقیح شده در شرایط مرطوب آزمایشگاهی تا مشاهده علایم آب سوختگی و تراوش باکتریایی در سطح میوه نگهداری شد.



شکل ۱- اثبات بیماریزائی به روش تزریق سوسپانسیون غلیظ باکتری *E. amylovora* به نهنج گل سرخ

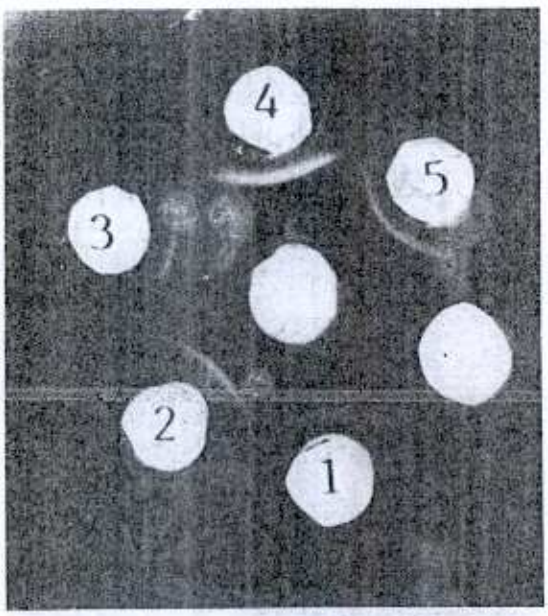
Fig. 1. Pathogenicity test of *E. amylovora* through injection of bacterial suspension into receptacle of rose flower.

نتیجه و بحث

در پنج سال گذشته از ۲۹۴ مجموعه نمونه بررسی شده تنها در ۹۳ مورد آلودگی به باکتری *E. amylovora* محرز گردید. مناطق کاملا آلوده در این بررسیها نواحی مختلف قزوین، کرج، شهریار، ارومیه، سلماس و تبریز بود. صفات و مشخصات بیوشیمیایی و سرولوژیکی (شکل ۲) استرینهای باکتریایی با خصوصیات گزارش شده قبلی مطابقت داشت (مزارعی، ذاکری و حسن‌زاده، ۱۳۷۳). نقوش الکتروفورزی پروتئینهای استرینهای مورد بررسی از میزبانان نقاط مختلف کشور نشان داد بین استرینها اختلافی وجود ندارد که این خود موید یکسانی

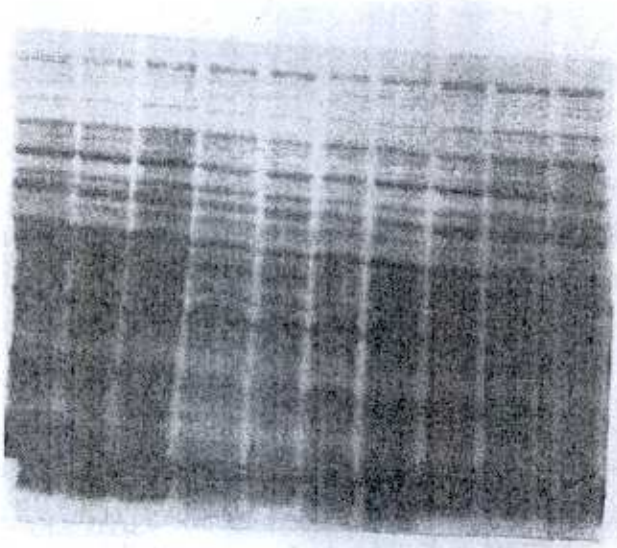
homogeneity)
همچنین از
مختلف کشور
نقده و گرگان د
آنچه که در
نهالستانهای حـ
است. قابل ذکر

شکل ۴- مناطق ا



شکل ۲- واکنش های مثبت آنتی ژن- آنتی بادی در آزمون نشت دو طرفه

Fig. 2. Positive reaction of antigen-antibody in double gel diffusion technique



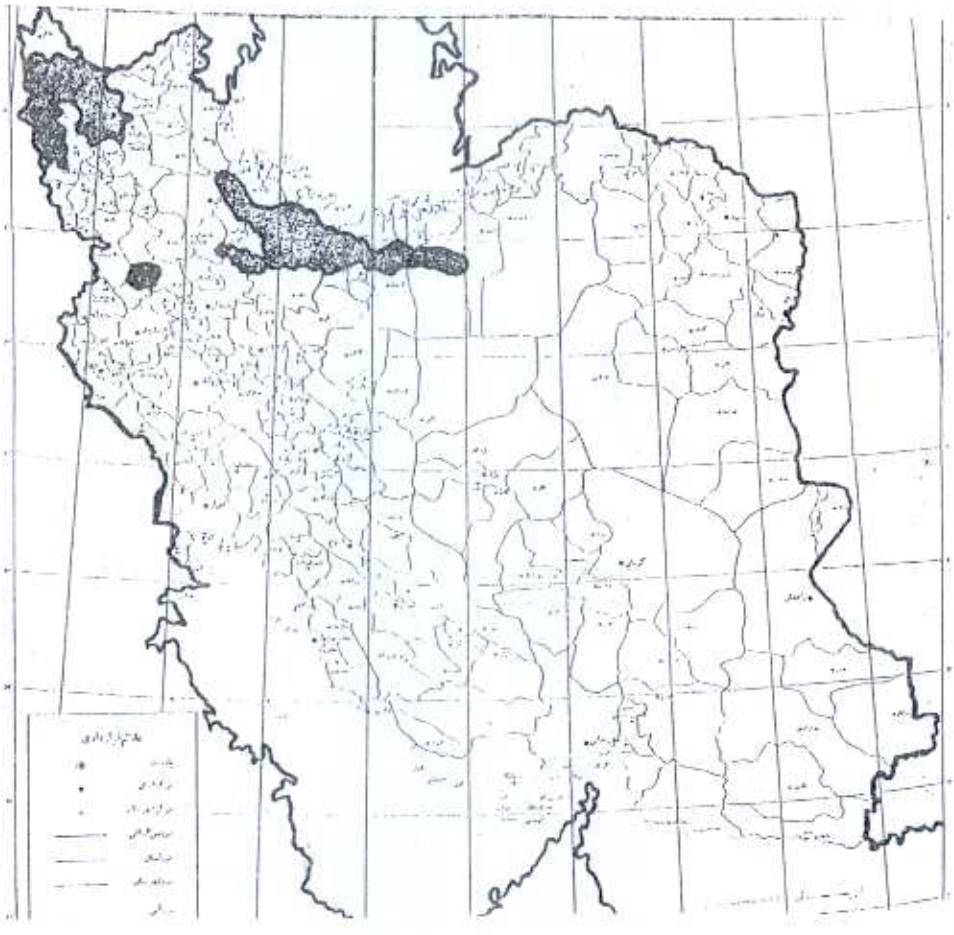
شکل ۳- مقایسه نقوش الکتروفورزی استرینهای باکتری *E. amylovora*

Fig. 3. Electrophoretic profiles of total proteins of *E. amylovora* strains

(homogeneity) استرینهای باکتریایی *E. amylovora* میباشد (شکل ۳).

همچنین از ۲۰۱ مجموعه نمونه مشکوک به بیماری آتشک که در این مدت از مناطق مختلف کشور مثل مشهد، زنجان، لرستان، مراغه، طالقان، رودهن، میانه، اردبیل، تویسرکان، نقده و گرگان دریافت و بررسی شد هیچگونه عامل باکتریایی جدا نگردید.

آنچه که در این جا قابل ذکر است آلودگی موضعی بسیاری از نقاط کشور، موقعیت حساس نهالستانهای حومه کرج و شهریار و سرانجام حساسیت کلیه درختان دانه دار به باکتری پاتوژن است. قابل ذکر است که به استثناء دو مورد جداسازی پاتوژن از روی درخت ازگیل (افیونیان



شکل ۴- مناطق انتشار بیماری باکتریایی آتشک در کشور*

Fig. 4. Geographical distribution of fireblight disease in Iran.

۱۳۷۴ و نمونه جدید از تبریز ۱۳۷۶) و یک مورد میزبان گل محمدی (نمونه جدید اخذ شده از ارومیه) در اغلب موارد آلودگیها در باغات درختان به، سیب و گلابی بوده است. با توجه به تعداد و درصد آلودگی در نمونه های آلوده مورد بررسی که به ترتیب از روی درختان به، ۴۰ مورد (۴۳٪)، گلابی ۳۵ مورد (۳۷٪) و سیب ۱۸ مورد (۱۹٪) بوده چنین نتیجه گیری میشود که درختان به بیش از همه و درختان سیب کمتر از همه میزبانها در باغات کشور به این باکتری حساسیت دارند.

با توجه به اطلاعات بدست آمده به کارگیری توصیه های زیر برای کنترل عامل بیماری از اهمیت زیادی برخوردار است:

۱- مناطق و نواحی زیادی در کشور وجود دارند که خوشبختانه هنوز سابقه و گزارش آلودگی ندارند و سریعا باید کنترل قرنطینه‌ای بشوند (شکل ۴).

۲- نهالستانهای متعددی در کشور در جوار کانونهای آلودگی وجود دارند که از درجه سلامت یا میزان آلودگی نهالهای تولید شده آنها اطلاعات دقیقی در دست نیست و می‌بایست در قدم اول نسبت به کنترل قرنطینه ای آنها و صدور گواهی بهداشت برای نهالهای عرضه شده اقدام گردد.

۳- کانونهای آلودگی روز به روز در حال افزایش است بطور مثال، آلودگی دو سال پیش باغات مختلف استان کردستان به باکتری *Psendomonas syringae* و تشابه اولیه این بیماری با بیماری آتشک در باغات سلماس و تازه شهر باعث شد که وقوع بیماری در این منطقه در سال ۱۳۷۱ پوشیده بماند. این مهم بار دیگر در مورد باغات سنندج (کردستان) مصداق پیداکرد و در بررسی نمونه‌های سیب و گلابی آن منطقه در سال ۱۳۷۶، آلودگی درختان به و گلابی، به بیماری آتشک محرز گردید. لازم به یادآوری است هر دو باکتری علیرغم اختلافات بارز در ایجاد علائم اولیه بیماری مانند سوختگی برگها، شکوفه ها و میوه های کوچک، شبیه هم عمل میکنند (شکل ۵).

از طرفی تشدید و تخریب بی‌حد بیماری در باغات قزوین در سال ۷۵-۱۳۷۴ به دلیل بارندگیهای شدید و آلودگیهای چند ساله این ضرورت را بوجود می‌آورد که کانونهای جدید و قدیم بیماری به هر نحو ممکن در اسرع وقت کنترل شوند.

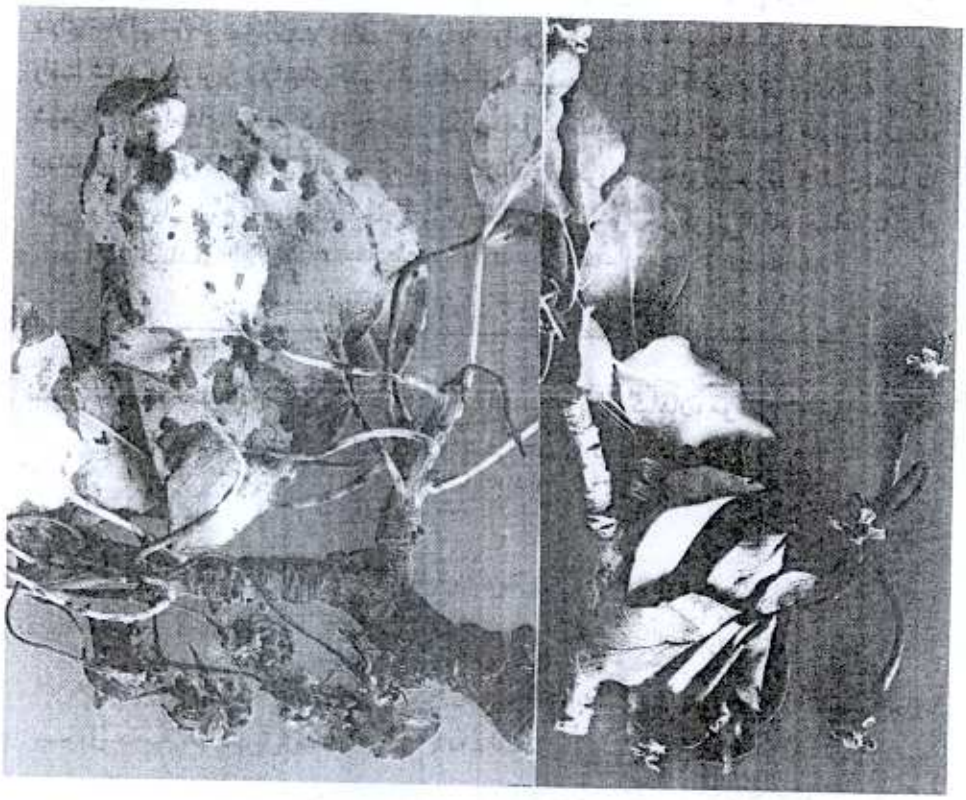
بر این اساس در حال حاضر استانهای مختلف کشور بر حسب آلودگی یا عدم آلودگی به سه منطقه عمده قابل تقسیم و برنامه ریزی هستند.

۱- **مناطق سالم**- شامل مناطق مهمی چون استان خراسان، اصفهان و اکثر استانهای کشور میشود که ظاهرا باکتری هنوز وارد آن مناطق نشده است. در این مناطق اجرای ضوابط متقن و محکم قرنطینه ای برای کنترل ورود و خروج نهالهای بدون گواهی بهداشت، آموزش علمی و عملی باغداران برای شناخت بیماری، مدیریت صحیح باغبانی و گزارش به موقع آلودگیهای احتمالی و مشکوک به مسئولین و معرفی و توصیه برای کاشت ارقام متحمل در جهت اجتناب از گسترش بیماری از ضروریات است.

۲- **مناطق نیمه آلوده یا نیمه سالم**- این مناطق شامل شهرهای استان آذربایجان شرقی، دماوند و

شکل ۵- مقایسه
مشابه توسعه
:) as compared

اخیرا کردستان،
باکتری به مناط
کنترل بر پایه ش
آلودگی کم و س
و بالاخره آگاهو
بهداشت می‌باید
۳- مناطق آلوده
که متاسفانه باک
نشان داده است



شکل ۵- مقایسه علائم بلایت شکوفه در گلابی توسط *E. amylovora* (سمت راست) با علائم مشابه توسط *P. syringae* (سمت راست).

Fig. 5. Characters of blossom blight of pear caused by *E. amylovora* (right) as compared to similar symptoms caused by *P. syringae* (left).

اخیرا کردستان، زنجان و شهمیرزاد سمنان میشود. خصوصیات ویژه این مناطق نفوذ و ورود باکتری به مناطق مذکور و خوشبختانه عدم استقرار آن است. در چنین مناطقی هدف اصلی کنترل بر پایه شناسایی دقیق باغات آلوده، حذف گیاهان آلوده و حساس، هرس شدید درختان با آلودگی کم و سمپاشیهای مکرر آنها با محلول بوردو و یا سموم مسی مشابه، کنترل بیولوژیکی و بالاخره آگاهی باغداران برای عدم کاشت نهالهای حساس و حداقل بدون مجوز گواهی بهداشت می‌باید استوار باشد (حسن زاده، ۱۳۷۵).

۳- **مناطق آلوده** - این مناطق شامل برخی از مناطق استان تهران و استان آذربایجان غربی میشود که متاسفانه باکتری وارد و کاملا مستقر شده است. تجارب کشورهای مختلف (Beerr, 1979) نشان داده است در چنین مناطقی هیچ راه حل اصولی و مطمئنی به جز مدیریت صحیح بیماری

وجود ندارد و به جرات میتوان گفت در اینگونه مناطق قوانین امحاء (انهدام درختان حساس و دارای علائم شانکر تنه) لزوما جای خود را به قوانین مدیریت صحیح باغبانی میدهند. در این راستا شاید موثرترین روشهای کنترل استفاده از سیستمهای پیش آگاهی برای مبارزه به موقع شیمیائی در راستای مختل کردن چرخه زندگی عامل بیماری، عملیات دقیق هرس، امحاء اندامهای آلوده و میزبانهای ثانویه، انجام سمپاشیهای مکرر با محلول بوردو و ترجیحا با آنتی‌بیوتیک یا سموم توصیه شده جدید در مرحله گل و بالاخره جایگزینی ارقام حساس با انواع متحمل آن میباشد.

نشانی نگارنده: دکتر نادر حسن‌زاده، بخش تحقیقات بیماریهای گیاهان، موسسه تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی، صندوق پستی ۱۴۵۴ تهران ۱۹۳۹۵.