Mesopotamia J. of Agric. ISSN: 2224 - 9796 (Online) مـجلــة زراعــة الـرافـديـن
Vol. (46) No. (2) 2018 ISSN: 1815 - 316 X (Print) المجلد (46) العدد (2) 2018

تشخيص البكتريا المسببة لمرض اللفحة النارية على العرموط والتفاح في محافظة نينوى ومكافحتها كيميائياً

احمد نبيل سعيد رسمية عمر سلطان
قسم وقاية النبات / كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل – العراق
E-mail: rasmehmh@yahoo.com

الخلاصة

أظهرت نتائج مسح انتشار مرض اللفحة النارية على العرموط والتفاح في ثلاث مناطق ممثلة لمحافظة نينوى وهي محطة بستنة نينوى، الرشيدية وحاوي الكنيسة الذي اجري في شهري أيار وحزيران عام 2013 وبثلاث مواعيد إن أعلى نسبة إصابة كانت في الموعد الأخير في المناطق الثلاثة وتساوت في حقول العرموط والتفاح إذ بلغت 88%, 84% ,84% على التوالي إلا أن شدة المرض كانت أعلى في محطة بستنة نينوى وبلغت 0.61 في حقول العرموط و0.43 في حقول التفاح في القراءة الأخيرة. عزلت البكتريا المسببة للمرض من عينات الثمار والأزهار والأغصان المصابة وشخصت بإجراء عدد من الاختبارات الكيموحيوية وتم تأكيد التشخيص باختبار التلازن واختبار الامراضية على شتلات وثمار العرموط والتفاح وتبين أن العزلات تعود للنوع *Erwinia amylovora* . أوضح اختبار تأثير ثلاث مبيدات بكتيرية في نمو البكتريا مختبرياً أن المضاد الحيوي سبروفلوكساسين تفوق على المبيدين كبروسات وريفانول في تثبيط النمو البكتيري.

الكلمات الدالة: *Erwinia amylovora* ، مرض اللفحة النارية، مبيدات بكتيرية.

تاريخ تسلم البحث: 2013/11/10 ، وقبوله: 2014/2/17.

المقدمة

يعد مرض اللفحة النارية من أهم الأمراض البكتيرية التي تصيب 57 نوعا من الأنواع ضمن العائلة الوردية *Rosaceae*، ويعد العرموط والتفاح من أهم المحاصيل البستانية التي تتعرض للإصابة بهذا المرض، تنتشر البكتريا بشكل واسع فهي مسجلة في 46 بلداً، وتصيب البكتريا الأزهار والأوراق والثمار غير الناضجة، إذ تصبح الأنسجة المصابة ذات مظهر مائي ثم تذبل وتتحول إلى اللون البني المسود وتبقى محنطة على الشجرة وتظهر على الساق بشكل تقرحات وتفرز أجزاء النبات المصابة إفرازات بكتيرية كريمية اللون (ميخائيل وآخرون 1981؛ العاني وآخرون، 2002)، لقد بلغت الخسائر في هذا المرض في الولايات المتحدة الأمريكية حوالي 200 هكتار من الأراضي المزروعة وكانت الخسائر المادية تقريبا 10 مليون دولار، أما في كندا فقد بلغت الخسائر المادية حوالي 6 مليون دولار وفي فرنسا بلغت حوالي 4 مليون دولار سنوياً، وتتفاوت مقدار الخسائر في أشجار العرموط والتفاح بين البلدان تبعا للظروف الجوية المساعدة على انتشار المرض وكذلك على الموقع الجغرافي للمنطقة وقد تصل الخسائر إلى مئات الملايين من الدولارات سنويا (Agrios، 2005). يتم الكشف عن بكتريا اللفحة النارية باستخدام الأوساط المغذية القياسية شبه الانتخابية (Croose وGoodman، 1973 ;Ishimaru وKlos، 1984) بالإضافة إلى استخدام بعض الطرائق المصلية مثل اختبار التلازن Agglutination test واختبار الانتشار المزدوج Double-diffusion واختبار اليزا ELISA واختبار الوميض المناعي Immunofluorescence واختبار الانتشار المناعي Immunodiffusion (Roberts، 1980 ;Laroche وآخرون، 1987 ;Gugerli وGouk، 1994)، وتجري اختبارات القدرة الامراضية للكشف عن بكتريا اللفحة النارية وذلك بعدوى أجزاء نباتية حساسة للمرض ويمكن الكشف عنها باستخدام اختبار فرط الحساسية على نبات التبغ ، (Ritchie وKlos، 1974 ;Jones وGeider، 2001)، وتعد الطرائق الجزيئية أكثر الطرائق حساسية وكذلك pEA29-PCR من أكثر هذه الاختبارات شيوعاً (Merighi وآخرون، 2000; Guilford وآخرون، 1996).

مواد البحث وطرائقه

المسح الحقلي: أُجري المسح لتقدير كل من نسبة الإصابة باللفحة النارية وشدتها على أشجار العرموط والتفاح في ثلاث مواقع في مدينة الموصل وهي محطة بستنة نينوى، الرشيدية وحاوي الكنيسة، وذلك خلال شهري أيار وحزيران لعام 2013 وبثلاث مواعيد هي 3 أيار و28 أيار و26 حزيران، إذ حسبت النسبة المئوية للإصابة على 25 شجرة ممثلة لكل موقع مأخوذة من الحقل بشكل عشوائي، واستخرجت النسبة المئوية للإصابة وفق المعادلة الآتية:

$$\text{نسبة الإصابة الحقلية} = \frac{\text{عدد الأشجار المصابة}}{\text{عدد الأشجار المحسوبة (25)}} \times 100$$

وكذلك حسبت شدة الإصابة تبعا للمقياس المكون من خمس درجات تبعا لنسبة إصابة المجموع الخضري للشجرة باللفحة النارية (James، 1971).

بحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الأول.

رقم الفئة	النسبة المئوية لإصابة الشجرة	الدليل المرضي
1	سليمة	صفر
2	% 25 – 1	1
3	% 50 – 26	2
4	% 75 – 51	3
5	% 100 – 76	4

حسبت شدة الإصابة وفق المعادلة الآتية:

$$\text{شدة الإصابة} = \frac{\text{عدد الأشجار المصابة من الفئة 1 × دليلها المرضي+....+عدد الأشجار المصابة من الفئة 5 × دليلها المرضي}}{\text{العدد الكلي للأشجار المحسوبة × أعلى دليل مرضي}}$$

عزل وتنقية وتشخيص المسبب المرضي: جمعت عينات أزهار وأغصان وثمار مصابة وعقمت سطحياً بالايثانول70% لمدة ثلاث دقائق ووضعت في هاون خزفي مع 5مل ماء مقطر معقم وسحقت ثم أخذت حملة لوب من المعلق وزرعت بطريقة التخطيط على أطباق بتري حاوية على الوسط الانتخابي وسط أكار ماكونكي MacConkey Agar، حضنت الأطباق في درجة حرارة 28°م لمدة 24-48 ساعة ولوحظت المستعمرات، (Papdiwal و Deshpande ، 2004) وتمت تنقية المستعمرات التي أظهرت خواص مظهرية مطابقة لخواص بكتريا *Erwinia amylovora* وتم إجراء تنقية إضافية لها بزرعها بطريقة التخطيط على وسط الأكار المغذي الحاوي على (5%) سكروز، أجري التشخيص بإجراء اختبارات الاوكسيديز، كاتاليز، تعفن شرائح البطاطا، النمو بدرجة حرارة 36°م، إنتاج الليفان، النمو في الوسط الحاوي على 2% كلوريد الصوديوم، تحلل النشأ، اختزال النترات، إنتاج الاندول، تكوين صبغة وردية على وسط مستخلص الخميرة والدكستروز وكاربونات الكالسيومYDC، تخمر الكاربوهيدرات، التأكسد والتخمر، انتاج اليوريز، إنتاج غاز كبريتيد الهيدروجين اعتمادا على مصادر تشخيص البكتريا (Klement وGoodman، 1987 ;Cruckshank وآخرون، 1975 ;Gerhardt وآخرون، 1981 ;Lelliot وStead، 1987 ;Schaad، 1988 ;Koneman وآخرون، 1997).

اختبار التلازن: استخدم الشريط المجهز من شركة Neogen (United Kingdom) المؤلف من محلول الاختبار ومحلول السيطرة الموجب ومحلول السيطرة السالب وأُجري الاختبار بوضع قطرة من المعلق البكتيري للعزلة المراد اختبارها في منتصف الشريط المجهز من الشركة ووضع قطرة من محلول الاختبار عليها وبالطريقة نفسها أجري الاختبار لمحلول المقارنة الموجب والسالب ولوحظت النتيجة.

اختبار فرط الحساسية على أوراق التبغ: زرعت بذور تبغ صنف *Nicotiana tabacum* في صناديق بلاستيكية تحتوي خليطاً من تربة مزيجية وبتموس (1:1) معقمة بالفورمالين 2 % ونقلت النباتات في مرحلة أربع أوراق إلى اصص بلاستيكية سعة (2/1 كغم) تحتوي خليطاً معقماً من ذات التربة. حقن اللقاح المعدي البكتيري المحضر بتركيز (10^8 وحدة تكوين مستعمرة/مل) في الأوراق باستخدام محقنة طبية دقيقة حجم 1 مل ووضعت النباتات الملقحة في البيت البلاستيكي مع المتابعة اليومية لحين ظهور الأعراض. حقنت أربع أوراق لكل عزلة وحقنت أربعة نباتات أخرى بالماء المقطر استخدمت كمقارنة.

اختبار الامراضية على ثمار العرموط والتفاح: أخذت ثمار تفاح وكمثرى ناضجة وعقمت سطحياً بمحلول هايبوكلورات الصوديوم 0.5% ثم غسلت ثلاث مرات بماء مقطر معقم وحقنت بمعلق بكتيري ذو تركيز 10^9 خلية/مل المحضر من مزرعة حديثة، حضنت في درجة حرارة 28°م وفحصت يومياً للتحري عن التنخر الأسود مع النزيز البكتيري (Oozing) وهي النتيجة الموجبة في حين لقحت معاملات السيطرة بماء مقطر معقم (Schaad، 1988).

اختبار الامراضية على شرائح العرموط والتفاح: تم عمل شرائح بقطر (0.5 إلى 1 سم) من ثمار التفاح والعرموط الناضجة ولقحت بحملة لوب من المستعمرات البكتيرية ووضعت في أطباق بتري معقمة على أوراق ترشيح معقمة مرطبة بالماء المقطر المعقم وضعت في درجة 28°م وفحصت يومياً لمدة أسبوعين (Schaad، 1988).

اختبار القدرة الامراضية على الشتلات: نفذت التجربة في الحقول التابعة لقسم وقاية النبات في كلية الزراعة والغابات وتم اختبار القدرة الامراضية للبكتريا المعزولة والمشخصة بعد تنميتها على وسط الأكار المغذي لمدة 24 ساعة، (Paulin، 2008) حضر المعلق البكتيري وذلك بإضافة 5 مل من الماء المقطر المعقم إلى كل طبق حاوي على مستعمرات حديثة وبعد جمع المعلق البكتيري المركز أجريت عدة تخافيف للحصول على التركيز 10^8x1 خلية / مل وتم ضبط تركيز الخلايا البكتيرية باستخدام شريحة العد Haemocytometer ، وتم إجراء العدوى الاصطناعية لشتلات العرموط صنف

كارمن Carmen ولشتلات التفاح صنف أنا Anna التي تم الحصول عليها من محطة بستنة نينوى وبعمر سنتين خالية من الإصابة سبق زرعها في الحقل وذلك باستخدام طريقتين لعدوى الشتلات وهي:

طريقة حقن المعلق البكتيري في الفرع: أجري التلقيح بحقن المعلق البكتيري المحضر في الفقرة السابقة في عقدة الورقة العليا من الفرع باستخدام محقنة معقمة حجم 1 مل، وتم تلقيح جميع أفرع الشتلة. لقحت خمس شتلات كمثرى صنف كارمن Carmen وخمس شتلات تفاح صنف أناAnna في حين لقحت خمس شتلات أخرى لكل صنف بالماء المقطر المعقم للمقارنة، وضعت الشتلات تحت المراقبة لحين ظهور أعراض الإصابة وتم إعادة عزل المسبب المرضي من الشتلات المصابة وقورنت بالبكتريا الأولية كما قورنت الأعراض مع الأعراض التي شوهدت على الأشجار أثناء المسح الحقلي تحقيقاً لفرضيات كوخ.

طريقة قص الأوراق العليا بمقص ملوث بالبكتريا: اجري التلقيح بغمر مقص في المعلق البكتيري المذكور آنفاً وقص 0.5سم من الحافة العلوية لأصغر ثلاث أوراق في كل فرع من النبات ومراقبة الأعراض كما ذكر في الفقرة السابقة. استخدمت خمس شتلات من العرموط صنف كارمن Carmen و خمس شتلات من التفاح صنف أنا Anna في حين عوملت خمس شتلات من كل صنف بقص الأوراق العليا بمقص معقم وتركت للمقارنة.

اختبار تأثير المبيدات مختبرياً:

استخدمت المبيدات الآتية:

1. كبروسات Cuprosate (محلول) (المادة الفعالة Cymoxanil 4.5%، Copperoxy 75%، Cholride) حضر بتركيز 2 مل / 2 لتر ماء.
2. ريفانول أس أل Revanol SL (محلول) (المادة الفعالة: Quinoline بتركيز 500 ملغم/لتر) حضر بتركيز 1 مل / 1 لتر ماء.
3. سبروفلوكساسين Ciprofloxacin (محلول) (المادة الفعالة سبروفلوكساسين 100 ملغم/1 مل) حضر بتركيز 1 مل / 2 لتر ماء.

استخدمت طريقة الحفر في الأكار للاختبار ونقلت حملة لوب من مستعمرات البكتريا إلى 5 مل من المحلول الملحي الفسلجي المعقم، غمرت ماسحة قطنية في المعلق ونشر على سطح أطباق الأكار المغذي وباستخدام ثاقب فليني معقم بقطر 6 ملم تم عمل ثقوب في الوسط وضعت فيها المبيدات بتركيز الموصى به باستخدام ماصة دقيقة. حضنت الأطباق في درجة حرارة 28°م لمدة (24-48) ساعة ثم سجلت أقطار المنطقة الرائقة حول كل حفرة.

النتائج والمناقشة

نتائج المسح الحقلي: أظهرت نتائج مسح انتشار مرض اللفحة النارية في مدينة الموصل (محطة بستنة نينوى الرشيدية، وحاوي الكنيسة) الذي اجري في شهري أيار وحزيران من عام 2013م لأشجار التفاح والعرموط وبثلاث مواعيد مختلفة أن نسبة الإصابة في محطة بستنة نينوى والرشيدية كانت أعلى من نسبة الإصابة في حاوي الكنيسة إذ بلغت 64% لحقول العرموط و 60% لحقول التفاح وازدادت نسبة الإصابة مع الزمن لتصل الإصابة إلى 84% في حقول العرموط والتفاح في محطة بستنة نينوى والرشيدية و 88% في حاوي الكنيسة كما مبين في الجدولين (1) و (2).

أظهرت النتائج أن نسبة إصابة أشجار العرموط كانت أعلى في بداية الموسم من نسبة إصابة أشجار التفاح للمواقع الثلاثة وهذا يتفق مع ما ذكره Zwet (1996) من أن العرموط أكثر حساسية للإصابة من التفاح.

وتبين النتائج في الجدولين (1) و(2) أن شدة الإصابة في حقول العرموط كانت أعلى من شدة الإصابة في حقول التفاح للمواقع الثلاث وقد ازدادت مع الزمن وكانت شدة الإصابة في محطة بستنة نينوى أعلى من المواقع الأخرى إذ بلغت 0.61 في حقل العرموط و 0.43 في حقل التفاح. وتوضح هذه النتائج خطورة مرض اللفحة النارية وانتشاره في مدينة الموصل وضرورة اتخاذ التدابير لتقليل الإصابة به في حقول التفاح والعرموط.

من الملاحظ أن الإصابة بالمرض بدأت في الأغصان الغضة التي تكونت في موسم الربيع وتتفق هذه النتائج مع ما وجده Zwet (1969a) إذ ذكر أن الأوراق والأغصان الحديثة الغضة التي تشكلت في فصل الربيع هي الأكثر عرضة للإصابة ، بينما كانت الأوراق الناضجة اقل عرضة للإصابة بالمرض ووجد الباحثون Beer و Norelli (1977) وHilldebrand (1936) و Zwet (1969a,b) أن البكتريا المسببة للمرض تبقى أثناء فترة الشتاء في التقرحات التي تشكلت في الموسم السابق.

وأكد الباحثون Baldwin و Goodman (1963) و Dueck و Morand (1975) و Psallidas (2006) أن البكتريا *Erwinia amylovora* توجد طبيعيا على الأغصان والأزهار غير المصابة بإعداد معينة إذ تم عزلها من الأنسجة السليمة.

الجدول (1): نسبة الإصابة وشدتها لأشجار العرموط في ثلاثة مواقع ممثلة لمدينة الموصل.

Table (1): Rate and degree of infection on pear trees in three places of Mosul city.

Third date القراءة الثالثة		Second date القراءة الثانية		First date القراءة الأولى		Date التاريخ / Location الموقع
شدة الإصابة Degree of infection	النسبة المئوية للإصابة Rate of infection	شدة الإصابة Degree of infection	النسبة المئوية للإصابة Rate of infection	شدة الإصابة Degree of infection	النسبة المئوية للإصابة Rate of infection	
0.61	84	0.5	76	0.4	64	محطة بستنة نينوى Nineveh Agricultural Station
0.55	84	0.46	76	0.34	64	الرشيدية Al-Rasheediya
0.46	88	0.33	72	0.25	64	حاوي الكنيسة Hawi Al-kaneesa

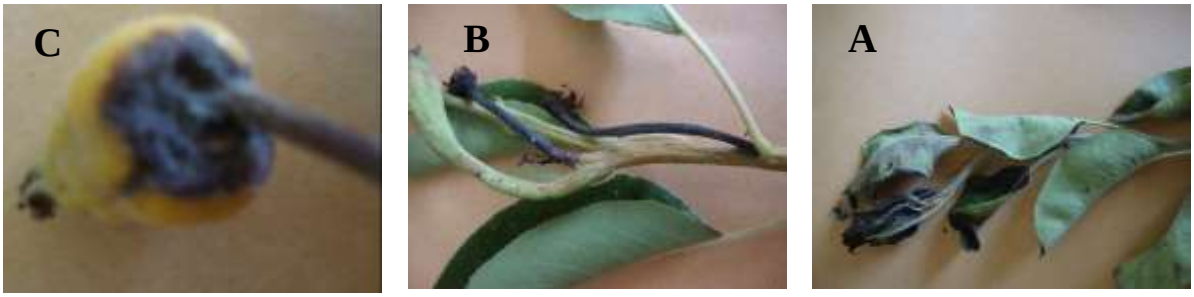
الجدول (2): نسبة الإصابة وشدتها لأشجار التفاح في ثلاثة مواقع ممثلة لمدينة الموصل.

Table (1): Rate and degree of infection on apple trees in three places of Mosul city.

Third date القراءة الثالثة		Second date القراءة الثانية		First date القراءة الأولى		Date التاريخ / Location الموقع
شدة الإصابة Degree of infection	النسبة المئوية للإصابة Rate of infection	شدة الإصابة Degree of infection	النسبة المئوية للإصابة Rate of infection	شدة الإصابة Degree of infection	النسبة المئوية للإصابة Rate of infection	
0.43	84	0.32	68	0.28	60	محطة بستنة نينوى Nineveh Agricultural Station
0.34	84	0.26	72	0.23	60	الرشيدية Al-Rasheediya
0.40	88	0.31	72	0.25	56	حاوي الكنيسة Hawi Al-kaneesa

تم رصد أعراض نموذجية لمرض اللفحة النارية، وتركزت هذه الأعراض على الفروع الغضة للكمثرى والتفاح، حيث أخذت الفروع الغضة المصابة مظهر عصا الراعي، كما ترافقت مع وجود إفرازات بكتيرية كريمية اللون على الجزء المصاب وبعد ذلك لوحظ انتشار هذه الأعراض على أشجار العرموط بشكل كبير جداً مقارنة بأشجار التفاح على الرغم من تجاور الأشجار في بعض البساتين حيث زرعت صفوف من أشجار العرموط والتفاح بشكل متناوب أحياناً أو تجاورت أشجار العرموط والتفاح معاً وتتفق هذهِ النتائج مع ما وجده Ries و Otterbacher (2008).

وقد لوحظ انتشار هذا المرض على الأزهار والثمار والأوراق بشكل كبير ورصدت الأعراض على الفروع الغضة بشكل كبير وكما مبين في الأشكال (1) [A و B و C].



الشكل (1) : أعراض الإصابة الطبيعية باللفحة النارية على العرموط
A : على الأوراق ، B : على البراعم الزهرية ، C : على الثمرة.

Figure (1) : Symptoms of natural infection with Fire Blight on Pear
A: Leafs , B: Flower Buds , C: Fruits.

تعتبر هذه النتائج مؤشراً مهما من أجل اتخاذ كافة الاحتياطات اللازمة لمنع انتشار مسببات اللفحة النارية بشكل وبائي وضرورة تطبيق تدابير صحية ووقائية من أجل الحفاظ على أشجار العرموط والتفاح وإنتاجية الأشجار من الثمار كماً ونوعاً.

إن الظروف البيئية تساعد على انتشار البكتريا سريعاً على أشجار التفاح والعرموط ومنها عاملي الحرارة العالية وارتفاع الرطوبة النسبية، ووجد AL-Dahmashi (1998) في غور الأردن أن جميع أصناف التفاحيات مصابة بمرض اللفحة النارية بدرجات متفاوتة وأن أعلى معدل إصابة للأغصان بلغ 82% و 80% للصنفين Assansah و Humice على التوالي وبشدة إصابة بلغت (2.28) و (2.0) على التوالي، أما أقل نسبة إصابة للأغصان (0.24) مع شدة إصابة (0.2) سجلت على صنف التفاح Starkrimson.

نتائج عزل وتنقية المسبب المرضي: أظهرت نتائج الزرع على وسط ماكونكي نمواً بكتيرياً تمثل بمستعمرات ذات قطر 2-5 ملم محدبة لماعة معتمة وذات لون وردي فاتح أي بطيئة التخمير للكلوكوز (الشكل 2).

الشكل (2): مستعمرات البكتريا *Erwinia amylovora* على وسط ماكونكي.
Figure (2) : Colonies of *Erwinia amylovora* on MacConkey Agar.

نتائج اختبارات تشخيص البكتريا: يوضح الجدول (3) نتائج اختبارات تشخيص البكتريا المعزولة من العينات المصابة إذ تؤكد أن العزلة تعود للنوع *Erwinia amylovora* وتتفق هذه النتائج مع ما ورد في أنظمة التشخيص المعتمدة (David وآخرون، 2001).

الجدول(3): نتائج الأختبارات الكيموحيوية المستخدمة في تعريف البكتريا *Erwinia amylovora.*
Table (3): Results of biochemical tests used to identify *Erwinia amylovora.*

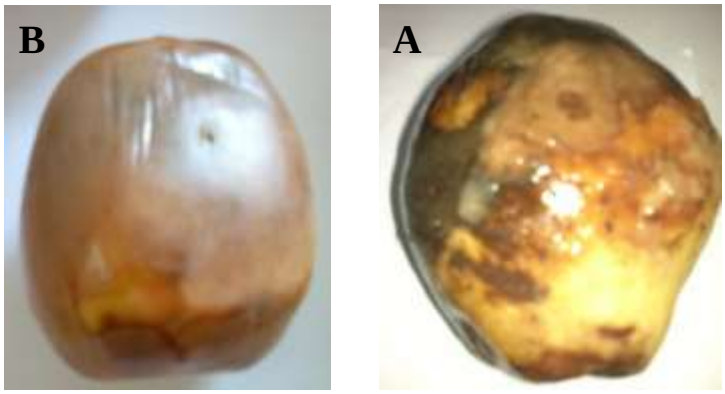
النتائج Results	الاختبارات الكيموحيوية Biochemical Tests
-	صبغة كرام Gram Stain
-	اختبار الاوكسيديز Oxidase Test
+	اختبار الكاتاليز Catalase Test
-	اختبار تعفن شرائح البطاطا Potato Slices Rot Test
-	اختبار النمو بدرجة 36مْ Growth at 36C Test
+	اختبار إنتاج الليفان Levan Production Test
+	اختبار النمو في الوسط الحاوي على 2% كلوريد الصوديوم Growth on Medium containing 2% Sodium Chloride
-	اختبار تحلل النشأ Starch Hydrolysis Test
-	اختبار اختزال النترات Nitrate Reduction Test
-	اختبار إنتاج الاندول Indole Production Test
-	اختبار تكوين صبغة وردية على وسط YDC Production of Pink Color on YDC Medium
+	اختبار تخمر الكاربوهيدرات Carnbohydrate Fermentation Test
+	اختبار التأكسد والتخمر Oxidative Fermentative Test
-	اختبار إنتاج اليوريز Urease Production Test
-	اختبار إنتاج الغاز كبريتيد الهيدروجين Production of Hydrogen Sulfide Test

(-): سالب Negative (+): موجب Positive

وقـد تـم تأكيـد هـذه النتـائج بـإجراء اختبـار الـتلازن باسـتخدام الأمصـال القياسـية المجهـزة مـن شـركة Neogen التي بينت أن جميع العزلات المختبرة كانت موجبة لاختبار التلازن وهذا يؤكد أنها تعود للنوع *Erwinia amylovora*، ويبين الشكل (3) نتائج اختبار فرط الحساسية على أوراق التبغ الذي يعد اختبارا تأكيدياً لتشخيص عدد من الأنواع البكتيرية الممرضة للنبات.

الشكل (3): نتائج اختبار فرط الحساسية على أوراق التبغ.
Figure (3) : Hypersensitivity Test Result on Tobacco Leaf.

نتائج اختبار الإمراضية: أظهر اختبار الإمراضية على ثمار العرموط والتفاح تحول نسيج الثمرة المحقون بالبكتريا إلى اللون البني مع ظهور إفرازات بكتيرية وذلك بعد (7 أيام) من الحقن، وتبين أن العرموط أكثر حساسية من التفاح كما مبين في الشكل (4) وتتفق هذهِ النتيجة مع ما وجده Roberts و Reymond (2007).



الشكل (4): ظهور الأعراض بعد سبعة أيام من الحقن بالبكتريا
(A) على ثمرة العرموط و(B) على ثمرة التفاح.
Figure (4): Symptoms after seven days from injection with bacteria
(A): On Pear Fruit , (B): On Apple Fruit.

نتائج اختبار تأثير المبيدات مختبرياً: يبين الجدول (4) أن المضاد الحيوي سبروفلوكساسين هو الأكثر تأثيراً في نمو البكتريا مختبرياً، إذ بلغ قطر منطقة تثبيط النمو 35ملم في حين لم تظهر المبيدات ريفانول وكبروسات تأثيراً يذكر وتتفق هذه النتائج مع ما ذكره الباحثون Beer و Norelli (1977) وLelliot و Stead (1987) و Al-Dahmashi (1998) و Agrios (2005) الذين أكدوا أن الكثير من عزلات النوع *Erwinia amylovora* أصبحت مقاومة لمركبات النحاس مما يستدعي استخدام واستحداث مبيدات أفضل تأثيراً.

الجدول (4): تأثير المبيدات الثلاث في نمو البكتريا مختبرياً.

Table (4): The effect of Bactericides in the growth of the bacteria *in vitro*.

قطر منطقة التثبيط (ملم) Inhibition zone (mm)	الكمية Quantity	اسم المبيد Name of Bactericides
صفر	10 مايكروليتر/ حفرة Microliter/ Hall	ريفانول Revanol
صفر	10 مايكروليتر/ حفرة Microliter/Hall	كبروسات Cuprosate
35	10 مايكروغرام/ قرص Microliter/ Disc	سبروفلوكساسين Ciprofolxacin

IDENTIFICATION OF BACTERIA THAT CAUSED FIRE BLIGHT ON PEAR AND APPLE IN NINEVEH GOVERNORATE AND IT'S CONTROL

Ahmed Nabeel Saeed Rasmia Omar Sultan
Plant protection Dept., College of Agriculture and Forestry, Mosul University. Iraq
E-mail: rasmehmh@yahoo.com

ABSTRACT

A field survey conducted in 2013 revealed the occurrence of Fire blight disease in the three surveyed areas (Nineveh agricultural station, Al-Rasheediya and Hawi Al-Kaneesa) in Nineveh Province. The highest infection rate was 88% for pear and apple trees in Hawi Al-Kaneesa while the infection degree was 0.61 and 0.43 degree respectively highest in Nineveh agricultural station for pear and apple trees. The pathogen was isolated from infected fruits, flowers and twigs, identified by many biochemical tests and confirmed by Agglutination test and Pathogenecity on pear seedlings and fruits. The results indicated that the isolated bacteria was *Erwinia amylovora.* The effect of three bactericides on the bacterial growth was tested *in vitro* the results indicated that ciprofloxacin was more effective than Cupprosate and Revanol.

Keywords: *Erwinia amylovora*, Fire blight disease, Bactericides.

Received: 10/11/2013, Accepted: 17/2/2014.

المصادر

العاني، رقيب عاكف وميسر مجيد وكامل سليمان جبر، (2002)، أمراض النبات، كلية الزراعة، جامعة بغداد.

ميخائيل، سمير وعبد الحميد طرابية وعبد الجواد الزرري (1981). أمراض البساتين والخضر. دار ابن الأثير للطباعة والنشر، جامعة الموصل، 280 صفحة.

Agrios, G. N. (2005). Plant Pathology 5th Edition. Elsevier Academic Press.

Al-Dahmashi, M. S. (1998). Epidemiology Of Fire Blight Disease On Pome Fruits In The Uplands Of Jordan. M. Sc. Thesis, University of Jordan.

Baldwin, G. H., and R. N. Goodman (1963). Prevalence of *Erwinia amylovora* in apple buds as detected by phage typing. *Phytopathology. 53: 1299-1303.*

Beer, S. V., and J. I. Norelli (1977). Fire blight epidemiology : factors affecting release of *Erwinia amylovora* by cankers. *Phytopatholgy. 67:1119-1125.*

Crosse, J. E. and R. N. Goodman. (1973). A selective medium and a definitive colony characteristic of *Erwinia amylovora*. *Phytopathology, 63: 7425-1426.*

Cruckshank R.; Duguid , J. P.; Marmion, B. P. and R. H. A. Swain (1975). Medical Microbiology. Vol.2. The Practice Of Medical Microbiology. Churchill Livingstone , Edinburg.

David R. B. ; W. C. Richard and G. M. Garrity (2001). Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology. 2nd Edition. Michigan State University. USA.

Dueck, J. and J. B. Morand (1975). Seasonal changes in the epiphytic population of *Erwinia amylovora* on apple and pear. *Canadian Journal of Plant Science. 55: 1007-1012.*

Gerhardt, T. P.; Murray, R. G. E.; Costilow; R. N.; Nester, E. W.; Wood, W. A.; Krieg, N. R. and G. B. Phillips (1981). Manual Of Methods For General Bacteriology. American Society For Microbiology. USA.

Gugerli, P. and S. C. Gouk (1994). Identification Of *Erwinia amylovora* With Monoclonal Antibodies. In: Plant Pathogenic Bacteria. Paris, France: *National Institute Of Agronomic Research, 325 -330.*

Guilford, P. J., RX. Taylor, R. C. Clark, C. N. Hale and R. L. S. Forster. (1996). PCR- based techniques for the detection of *Erwinia amylovora*. *Acta Horticulturae, 411: 53 - 56.*

Hilldebrand, E. M. (1936). Over-wintering of Erwinia amylovora in association with severe winter injury on Baldwin apple trees. *Phytopathology. 26: 702-707.*

Ishimaru, C. and E. J. Klos. (1984). New medium for detecting *Erwinia amylovora* and its use in epidemiological studies. *Phytopathology, 74: 1342-1345.*

James, C. (1971). A Manual Of Assessment Key For Plant Diseases. American Phytopathology Society. USA.

Jones, A.L and K. Geider. (2001). Gram negative bacteria *Erwinia amylovora* group. Pages 40-55. In: Laboratory Guide For Identification Of Plant Pathogenic Bacteria, 3rd Edition, Minnesota, USA.

Klement, A. and R. Goodman (1987). The hypersensitive reaction infection by bacterial plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology, 5: 17-44.*

Koneman E.W.; Allen S. D.; Dowell V. R.; Janda W. M.; Sommer H. M. and W. C. Winn (1997). Color Atlas And Textbook Of Diagnostic Microbiology . 4th Ed., J. B. Lippiontt Comp., Philadelphia.

Laroche, M.; Givron C. and M. Verhoyen. (1987). Use of the ELISA method to identify *Erwinia amylovora* by means of its metabolites. *Bulletin European and Mediterranean Plant Protection Organization, 17: 205 - 210.*

Lelliot, R. A. and D. E. Stead (1987). Methods For The Diagnosis Of Bacterial Disease Of Plant. Back Well Scientific Publication.

Merighi, M.; A. Sandrini, S.; Landini S.; Ghini, S.; Girotti, S.; Malaguti and C. Bazzi (2000). Chemiiluminescent and colorimetric detection of *Erwinia amylovora* by immunoenzymatic determination of PCR amplicons from plasmid pEA29. *Plant Disease, 84: 49 - 54.*

Papdiwal, P. B. and K. B. Deshpande, (2004). New records of bacterial diseases from India. Proceedings of the National Academy of Sciences, India, B. 48, 1-4.

Paulin, J. P. (2008). Overwintering of *Erwinia amylovora*: sources of inoculum in spring. *Acta Horticulturae, 117: 49-54.*

Psallidas, P. G. (2006). Fireblight of pomaceous trees in Greece: Evolution of the disease and characteristics of the pathogen *Erwinia amylovora*. *Acta Horticulturae, 273:25-32.*

Ries, S. M. and A. G. Otterbacher (2008). Occurrence of fire blight on thornless blackberry in Illinois. *Plant Disease Reporter, 61: 232-235.*

Ritchie, D. F. and E. J. Klos (1974). A laboratory method of testing pathogenicity of suspected *Erwinia amylovora* isolates. *Plant Disease Reporter, 58: 181 -183.*

Roberts, P. (1980). Problem encountered during immunofluorescent diagnosis of fire blight. *Plant Pathology, 29: 93 - 97.*

Roberts, R. G. and S. T. Reymond (2007). Evaluation of post-harvest treatment for eradication of *Erwinia amylovora* from apple fruit. *Crop Protection, 4: 283-288.*

Schaad, N. W. (1988). Laboratory Guide Of Plant Pathogenic Bacteria, 2nd Edition. Aps. Press.

Zwet, T. (1969a). Study of fire blight cankers and associated bacteria in pear. *Phytopathology. 59: 607-613.*

Zwet, T. (1969b). Influence of pear tissue age on infection by *Erwinia amylovora*. *Phytopathology. 59: 1561 (Abstract).*

Zwet, T. (1996). Present worldwide distribution of fire blight. *Acta Horticulturae, 411: 7-8.*